

Vergleichende Untersuchungen verschiedener
Methoden zur Bestimmung der partiellen
Thromboplastinzeit und ihre Anwendung zur
Kontrolle der Antikoagulantientherapie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Groscurth
aus Berlin

1971

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550817_0054

Vergleichende Untersuchungen verschiedener
Methoden zur Bestimmung der partiellen
Thromboplastinzeit und ihre Anwendung zur
Kontrolle der Antikoagulantientherapie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Groscurth

aus Berlin

1971

Referent: Professor Dr.med. Walther Pribilla

Korreferent: Professor Dr.med. E. Deutsch



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promotionsdatum: 10.5.72

INHALTSVERZEICHNIS

A) Einleitung	7
I. Ueberblick über das Gerinnungssystem	7
II. Oberflächenaktivierung des Gerinnungssystems	8
III. Verschiedene Testmethoden zur Erfassung von Gerinnungsstörungen mit besonderer Berücksichtigung der partiellen Thromboplastinzeit (PTT)	13
B) Methoden und Material	15
I. Globaltests	15
1. Thrombotest nach OWREN	15
2. Prothrombinzeit nach QUICK	15
3. Partielle Thromboplastinzeit (PTT) mod. nach FISCHER	15
4. Partielle Thromboplastinzeit mit Kaolin (Kaolin-PTT)	16
II. Quantitative Bestimmung der Blutgerinnungsfaktoren VII, IX und X	16
1. Faktor IX	16
2. Faktor X nach HOUIGIE	16
3. Faktor VII/X Bestimmung	17
4. Faktor VII nach LECHNER und DEUTSCH	17
III. Krankengut	18
C) Ergebnisse	19
I. Kaolin-PTT	19
II. Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden	20
1. Vergleich von Kaolin-PTT, Vollblut-PTT und Plasma-PTT bei gerinnungsnormalen und antikoagulierten Patienten	20
2. Abhängigkeit der geprüften PTT-Methoden bei Patienten mit haemorrhagischen Diathesen	21
3. Abhängigkeit der PTT-Methoden vom Faktor IX Spiegel bei antikoagulierten Patienten	22
4. Abhängigkeit der PTT-Methoden vom Faktor X Spiegel bei antikoagulierten Patienten	23
5. Beziehung zwischen den geprüften PTT-Methoden und dem Thrombotest	23

6. Beziehung zwischen Thrombotest und der Verminderung der Gerinnungsfaktoren VII, IX und X bei Patienten mit Antikoagulantienbehandlung	24
7. Vergleich von Thrombotest und Prothrombinzeit bei antikoagulierten Patienten	24
8. Vergleich von Prothrombinzeit, PTT-Methoden und den Gerinnungsfaktoren VII, IX und X bei vier Patienten mit stark erniedrigtem Thrombotestwert	24
D) Diskussion	26
I. Kaolin-PTT im Vergleich zur Vollblut-PTT und Plasma-PTT	26
II. Kontrolle der Antikoagulantientherapie durch Prothrombinzeit, Thrombotest und PTT-Methoden	27
E) Zusammenfassung	30
Tabellen	31
Bibliografie	36
Abbildungen	43

A) EINLEITUNG

Die erste umfassende Darstellung vom Ablauf der Blutgerinnung, die zum großen Teil auch heute noch gültig ist, stammt von MORAWITZ (1905). Nach ihm ist die Umwandlung des Prothrombins in Thrombin auf die Wirkung zweier präformierter zellständiger Thrombokinasen zurückzuführen, von denen er eine in den Thrombozyten, die andere in den meisten Gewebezellen nachgewiesen zu haben glaubte. Im weiteren Verlauf wird nach seiner Ansicht durch Thrombin als Gerinnungsferment Fibrinogen in Fibrin umgewandelt. Die Thrombokinasen sollten in der vorliegenden Form bereits wirksam sein. Es stellte sich jedoch heraus, dass dies nicht der Fall ist, sondern dass beide erst durch Reaktion mit bestimmten plasmatischen Gerinnungsfaktoren in die aktiven, das Prothrombin aktivierenden Formen umgewandelt werden müssen. Da im einen System nur Elemente des Blutes, nämlich Thrombozyten und Plasmafaktoren —, im anderen auch extravasale Komponenten als Reaktionspartner auftreten, unterscheidet man zwischen einem endogenen und einem exogenen System.

Das endogene System umfasst neben dem aus den Thrombozyten frei werdenden Lipoprotein (Thrombozytenfaktor 3) die Faktoren VIII, IX, XI und XII, während zum exogenen System ein aus dem Gewebe frei werdendes Lipoprotein und der Faktor VII gehören. Die alleinige Zugehörigkeit des Faktors VII zum exogenen System konnte erstmalig von ALEXANDER (1951) an Hand eines angeborenen Faktor-VII-Mangels nachgewiesen werden. Die Faktoren IV (Ca^{++}), V und X sind für beide Systeme zur Thrombokinasenbildung notwendig.

Die der eigentlichen Prothrombinaktivierung vorausgeschalteten Reaktionen kann man nach DAVIE und RATNOFF (1964) bzw. MACFARLANE (1964, 1966) als kaskadenartige Folge verschiedener Einzelreaktionen betrachten. Danach kommt es beim endogenen System durch Kontakt des Blutes mit einer benetzbaren Oberfläche zur Aktivierung und Umwandlung des Faktors XII vom Proenzym in das wirksame Enzym. Die weiteren Schritte sind als partielle Proteolysen aufzufassen, wobei sich der jeweils aktivierte Faktor wie ein

Enzym verhält und der in der Reihe folgende wie das Substrat. Im exogenen System wird die Reaktionskette durch die Freisetzung eines Lipoproteins aus Gewebezellen in Folge einer Gewebeerletzung eingeleitet. Nach Reaktion mit dem Faktor VII folgt die Aktivierung des Faktors X. Die unter Einwirkung des Thrombins erfolgende Bildung des Fibrins aus Fibrinogen ist ebenfalls eine proteolytische Reaktion. Das Thrombin spaltet das Fibrinogen zu dem polymerisationsfähigen Fibrinmonomer. Die Monomere lagern sich zu reversiblen Aggregaten zusammen, die erst durch die Ausbildung intermonomerer Brücken unter Mitwirkung des aktivierten Faktors XIII und Ca^{++} stabilisiert werden.

Die hier gegebene Vorstellung vom Gerinnungsablauf ist nur eine von mehreren Möglichkeiten. So wird z.B. von SEEGERs und seiner Schule die Thrombinbildung nicht als Endglied einer Kette vorausgeschalteter enzymatischer Reaktionen angesehen, sondern als autokatalytischer Vorgang, der durch verschiedene Derivate des Prothrombins gefördert wird.

Es gibt ferner den oben beschriebenen gerinnungsaktivierenden Schritten entgegenwirkende Mechanismen, die ein biologisches Gleichgewicht dieser Reaktionen wahren. Man kennt Hemmfaktoren gegenüber der Thrombokinase und ihren Komponenten (Antithrombokinase) und Antithrombine, die das Thrombin in seiner Gerinnungswirkung ausschalten.

Zum Blutgerinnungssystem im weiteren Sinne gehört auch die Fibrinolyse. Es handelt sich hier um einen komplizierten ebenfalls intra- sowie extravasal auslösbaren Vorgang der zur Auflösung des gebildeten Fibrins führt.

Ein besonderes Kapitel ist die Frage nach dem Mechanismus, der die Gerinnungskaskade in Gang bringt. Das exogene System wird durch Freisetzung der Gewebethrombokinase bei einer Gewebeerletzung aktiviert. Ein Kontakt mit fremden Oberflächen scheint dabei nicht notwendig zu sein, obwohl durch diese eine deutlich beschleunigte Aktivierung des Faktors VII von RAPAPORT et al. (1955) und SHANBERGE et al. (1966, 1967) nachgewiesen werden konnte.

Schon relativ früh wurde dagegen die Bedeutung von fremden Oberflächen für die Auslösung der Gerinnung im endogenen System erkannt. Man ging dabei von der Beobachtung aus, dass Blut, das ohne Beimischung von Gewebesaft dem Körper entnommen wurde, in silikonierten und paraffinierten d.h. nicht benetzbaren Gefäßen längere Zeit flüssig blieb, während es nach dem Umschütten in normale Glasgefäße sofort zu gerinnen begann. MORAWITZ (1905) führte dies auf die gesteigerte Agglutination der Thrombozyten an benetzbaren Oberflächen und die dadurch frei werdende Thrombokinasen zurück. LOZNER und TAYLOR (1942) fanden den gleichen gerinnungsbeschleunigenden Effekt durch fremde Oberflächen in plättchenreichem und plättchenarmen Plasma. CONLEY et al. (1949) konnten ebenfalls an plättchenfreiem Plasma nach Zugabe von Glasstaub eine Verkürzung der Gerinnungszeit erzielen. Sie schlossen aus ihren Ergebnissen, dass es einen "Plasmathrombokinasen-Vorläufer" gibt, der durch Kontakt mit Glas in den aktiven Zustand überführt wird. Dieser Plasmafaktor und die Thrombozyten seien zur normalen Gerinnung notwendig, aber jeder Teil allein könne den Vorgang einleiten. DEUTSCH (1955) wies jedoch darauf hin, dass der Prothrombinverbrauch in aktiviertem thrombozytenfreiem Plasma nicht zunimmt, woraus hervorgeht, dass die spezifische Thrombokinasewirkung der Thrombozyten durch Glasstaub allein nicht ersetzt werden kann. Die Wirkung von Oberflächen und Thrombozyten bei der Auslösung der Gerinnung betreffen völlig verschiedene Punkte im Gerinnungssystem und sind absolut unvergleichbar. BIGGS et al. (1953) glaubten, dass der Faktor IX und die Thrombozyten im Blut in inaktiver Form vorlägen und der Anstoß zur Thrombokinasenbildung durch die Aktivierung des Faktors IX und dessen Einwirken auf die Thrombozyten gegeben werde. RAPAPORT (1955) und KOLLER et al. (1957) wiesen ebenfalls auf die Bedeutung des Faktors IX hin. Sie fanden beide eine Aktivitätssteigerung dieses Faktors durch Kontakt des Blutes mit benetzbaren Oberflächen. SHAFRIR und DE VRIES (1956) konnten auch in einem mit BaSO_4 adsorbierten und auf 56 °C erhitzten Hämophilie A-Plasma eine Oberflächenaktivierung nachweisen. Da dieses Plasma keinen der Faktoren IX, VIII, X, VII, V und I enthielt, schlossen sie

auf eine Mitbeteiligung der Faktoren XI und XII an diesem Prozess. MARGOLIS (1956, 1957¹, 1957², 1958¹) fand eine normale Kontaktaktivierung durch Glas oder ähnliche Substanzen in Hämophilie A- und Hämophilie B-Plasma sowie in einem Faktor V Mangelplasma und bei Patienten, die unter Phenylindandion-Therapie standen. Die Oberflächenaktivierung war an eine Plasmakomponente gebunden, die zwar bei 56 C aber nicht mehr bei 60 C stabil war, die nicht an $\text{Al}(\text{OH})_3$ adsorbiert und maximal mit einer 25 bis 45%igen Ammoniumsulfat-sättigung gefällt wurde. Diese Substanz bezeichnete er als "Kontakt-Faktor". Nach seiner Auffassung kommt es durch die Einwirkung von fremden Oberflächen auf das Plasma zur Umwandlung des Faktors XII in den "Kontaktfaktor", der dann mit dem Faktor XI in der Bildung einer "gerinnungsfördernden Substanz" reagiert. Durch einen Inaktivator im Plasma wird der gebildete "Kontaktfaktor" sehr schnell wieder zerstört, so dass sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen dem aktivierenden und hemmenden Mechanismus einstellt. RATNOFF und ROSENBLUM (1957, 1958) stellten nach ihren Versuchen mit Entenplasma, das keinen Faktor XII enthalten soll, die Theorie auf, dass der Faktor XII im normalen Plasma durch die Anwesenheit eines oder mehrerer Inhibitoren inaktiviert wird und durch Glas oder andere adsorbierende Substanzen von diesen Inhibitoren befreit und dadurch aktiviert wird. RAPAPORT (1958) entdeckte eine Wirkungszunahme des Faktors XI im Plasma, das benetzbaren Oberflächen ausgesetzt war. Er meinte, dass der Faktor im zirkulierenden Blut zum grossen Teil, wenn nicht ausschliesslich, in inaktiver Form vorläge. WAALER (1959) lehnte die Möglichkeit einer Oberflächenaktivierung des Faktors IX ab. Nach ihm war die auslösende Reaktion im endogenen System in der Bildung eines Aktivierungsproduktes aus den Oberflächenfaktoren XI und XII zu sehen, wobei der Anteil der einzelnen Faktoren an diesem Produkt nicht geklärt werden konnte. Nach OLLENDORF (1961) ist die herabgesetzte Kontaktaktivierung des Faktors XII Mangelplasmas auf den Ueberschuss eines Inhibitors zurückzuführen. Dieser Inhibitor kann durch eine ausreichende Plättchenaktivität neutralisiert werden und danach wird das Faktor XII Mangelplasma wie normales Plasma durch fremde Oberflächen aktiviert.

DIDISHEIM und MIBASHAN (1963) konnten nachweisen, dass langkettige gesättigte Fettsäuren die Blutgerinnung beschleunigen. Bei einem Faktor XII Mangelplasma trat diese Wirkung jedoch nicht auf. Die Autoren schlossen daraus, dass der gerinnungsfördernde Effekt der Fettsäuren durch eine Aktivierung des Faktors XII zustande kommt. HAANEN et al. (1963, 1967) fanden, dass gereinigter aktivierter Faktor XII noch immer eine hohe Affinität für Glasoberflächen besitzt und sich seine Wirksamkeit in adsorbiertem Zustand weiter steigert. Sie kamen zu der Annahme, dass die Aktivierung des Faktors XII ein reversibler Vorgang sei, wobei sich das Molekül entfalte und aktive Gruppen freilege, sobald es an negativ geladene Oberflächen adsorbiert wird. In einer späteren Arbeit wiesen sie darauf hin, dass normalerweise wegen des kompetitiven Effekts anderer Proteine mit Glasaffinität nicht alle Faktor XII Moleküle an der Oberfläche adsorbiert werden. Erst wenn man das Plasma durch Zugabe von Celit mit einer grossen Oberfläche in Kontakt bringt, werden alle Moleküle des Faktors XII adsorbiert, was zum vollständigen Verbrauch dieses Faktors und zur maximalen Gerinnungsbeschleunigung führt. NIEWIAROWSKI et al. (1965) konnten nachweisen, dass der Faktor XII nahezu selektiv an Kollagen und Elastin adsorbiert wird. Ihrer Meinung nach wirkt bei der Auslösung der Blutgerinnung in vivo das Kollagen als endogener Faktor durch Adsorption und Aktivierung des Faktors XII. BARTH et al. (1966) untersuchten die Frage, ob zwischen den Oberflächenfaktoren XI und XII und der ersten Phase der Plättchenverklumpung eine Wechselbeziehung besteht. Celit-Eluat, das eine hohe Konzentration von Aktivierungsprodukt enthält, hatte jedoch keinen fördernden Einfluss auf die Plättchenaggregation. Im Gegensatz dazu aktivierte reines Celit das Blutgerinnungssystem und steigerte die Plättchenaggregation. Demnach scheint der Kontakt des Blutes mit fremden Oberflächen das Gerinnungssystem in Gang zu setzen und unabhängig davon die Plättchenaggregation zu induzieren. Nach IATRIDIS P.G. und IATRIDIS S.G. (1962¹, 1962², 1963, 1964¹, 1964², 1964³, 1965¹, 1965², 1966¹, 1966²) besteht neben der Aktivierung des Faktors XII durch benetzbare Oberflächen eine zweite Möglichkeit in der Aenderung der Plättchenoberfläche wie sie bei der Verletzung und anderen

pathologischen Veränderungen des Gefäßendothels gegeben ist. Hierbei kommt es in der plasmatischen Atmosphäre der Plättchen zur Bildung des Aktivierungsproduktes aus den Faktoren XI und XII. Gegen die Entstehung dieses Aktivierungsproduktes und der damit verbundenen Hyperkoagulabilität des Blutes sind verschiedene Mechanismen gerichtet. So verhindert einmal die plättcheneigene ATPase die Entstehung des Aktivierungsproduktes, zum zweiten liegt im Plasma ein Anti-Aktivierungsprodukt vor, dessen Aktivität z.B. durch die saure Phosphatase gefördert wird. Zwischen den aktivierenden und den inaktivierenden Phänomenen stellt sich im normalen Plasma ein Gleichgewicht ein. Darüber hinaus konnten die Autoren nachweisen, dass der Faktor XII auch in der Auflösung der Fibrinolyse eine bedeutende Rolle spielt, wobei er an der Bildung des endogenen Proplasminoplastins teilnimmt. VROMAN (1968) erklärte die Kontaktaktivierung plasmatischer Gerinnungsproteine durch die Freilegung polarer Gruppen. Er unterteilt die Gerinnungsfaktoren in solche mit vielen polaren Gruppen und andere, mehr apolare Substanzen, bei denen mehr hydrophobe Gruppen vorkommen. In die erste Gruppe zählt er die Faktoren XII, IX und X, und zur zweiten Gruppe der mehr hydrophob konfigurierten Moleküle die Faktoren XI, VIII und V. Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Gruppen können auftreten durch die Freilegung z.B. hydrophober Gruppen und die dann ablaufende Reaktion dieser freigelegten Gruppen mit anderen Proteinen. So erklärt er z.B. die Faktor XII Aktivierung durch derartige Freilegungen, wobei an die freigelegten hydrophoben Gruppen dann z.B. der Faktor XI angelagert werden könnte.

SEEGERS (1965) hält die Einführung eines speziellen Oberflächenfaktors für nicht notwendig, da seiner Meinung nach benetzbare Oberflächen die Reaktionsfähigkeit des Prothrombinmoleküls direkt beeinflussen. Demgegenüber steht die Auffassung von EGLI und KRAUSE (1969). Sie konnten in dem nach den SEEGER'schen Angaben hergestellten Rinderprothrombin noch eine hohe Faktor XII Aktivität nachweisen, die weitgehend unabhängig von der spezifischen Prothrombinaktivität des Ausgangspräparates war. Wahrscheinlich handelt es sich bei dieser Oberflächenfaktorenaktivität in Prothrombinpräparaten um eine

Verunreinigung, so dass Ergebnisse, die mit diesen Präparationen hinsichtlich Oberflächenfaktoraktivität erhalten werden, keine besonderen Rückschlüsse zulassen.

Zur Erkennung und Differenzierung der Gerinnungsstörungen wurden verschiedene Methoden erarbeitet:

QUICK (1935) entwickelte die Prothrombinzeit-Bestimmung, die im Prinzip darin besteht, dass vor der Rekalzifizierung des Plasmas ein Gewebeextrakt zum Testsystem gegeben wird. Diese Methode erfasst im wesentlichen eine Verminderung der Faktoren II, V, VII und X, wobei aber auch eine Abhängigkeit zu dem Fibrinogen besteht. Sie wird häufig zur Kontrolle der Antikoagulantientherapie herangezogen. HOWELL (1914) und HESS (1916) führten den Rekalzifizierungstest ein, mit dem sich in erster Linie Störungen im endogenen System diagnostizieren lassen. Eine Variation dieser Methode entwickelten LANGDELL et al. (1953): die "Partial Thromboplastin Time" (PTT). Sie gingen von der Beobachtung aus, dass verschiedene Gewebeextrakte (komplette Thrombokinase) die Gerinnungszeit des rekalzifizierten hämophilen Plasmas völlig normalisieren, wogegen andere Substanzen (partielle Thrombokinase) normales Plasma in kürzerer Zeit als hämophiles Plasma zur Gerinnung bringen. Als partielle Thrombokinase verwendeten sie rohes Kephalin, andere Autoren stellten Thrombozytenpräparate her, und BELL und ALTON (1954) entwickelten einen Chloroformextrakt aus Menschenhirnthrombokinase mit gleicher Wirkungsweise. Bei all diesen Reagentien handelt es sich um Phospholipide, die in der Wirkung den Lipoproteinen ähnlich sind, die von den Thrombozyten *in vivo* abgegeben werden.

RODMAN und BARROW (1958) fanden pathologische PTTs bei allen Faktoren-Mangelkrankheiten ausser beim isolierten Faktor VII Mangel. Zur Differentialdiagnose verwendeten sie eine Mischung aus bekanntem Mangelplasma und unbekanntem Testplasma; wurden die Gerinnungszeiten des Mangelplasma normalisiert, dann besass der Patient den in Frage stehenden Faktor in normaler Menge. Nur beim Vorliegen einer Hemmkörperhämophilie liess sich die PTT

auch nach Zugabe von normalem Plasma nicht normalisieren. NYE et al. (1962) konnten bei 6 Fällen mit isoliertem Faktor XII Mangel verlängerte Zeiten nachweisen, d.h. der Test kann pathologisch sein auch wenn keine Blutungstendenz vorliegt. QUICK (1963) bestätigte die Empfindlichkeit dieser Methode zum Nachweis von milden Hämophilien. Er fand schon bei einer Konduktorin mit Faktor VIII = 50 % eine leicht verlängerte PTT. Bei allen drei Autoren betrug der Mittelwert der gerinnungsnormalen Patienten 76 sec. und die dreifache Standardabweichung ± 13 sec. PROCTOR und RAPAPORT (1961) verwendeten neben Kephalin oder BELL und ALTON-Extrakt als partielle Thrombokinase Kaolin als oberflächenaktive Substanz. Dadurch verringerte sich der Normalwert auf 39,5 sec. und die dreifache Standardabweichung auf ± 6 sec. Durch Mischung von normalem Plasma (= 100 %) mit Mangelplasma (= 0 %) konnten sie nachweisen, dass verlängerte PTTs schon bei einer Reduktion des Faktors VIII auf 50 %, des Faktors IX auf 35 %, des Faktors XI auf 40 % und des Faktors XII auf 30 % auftreten. Ebenso wie PROCTOR und RAPAPORT verwendeten MARGOLIS (1958²), NYE (1962), WAALER (1959) und STRUVER et al. (1962) Kaolin und VOSS (1964) Celit als Aktivierungsmaterial. LENAHAN (1966) stellte folgende Bedingungen für die zu verwendenden Oberflächenaktivatoren auf: Sie dürfen keine Enzyminhibitoren enthalten, keinen Einfluss auf den pH-Wert haben, müssen leicht zu resuspendieren sein und von mal zu mal die gleiche Partikelgrösse haben. Er fand, dass diese Voraussetzungen durchaus auf bestimmte Celit- und Kaolin-Präparate zutrafen.

In dieser Arbeit soll die durch Kaolin aktivierte PTT mit der normalen PTT aus Vollblut und Plasma verglichen werden und etwa bestehende Korrelationen dieser drei Methoden zu anderen im Gerinnungslaboratorium vor allem in Hinblick auf die Kontrolle der Antikoagulantientherapie gebräuchlichen Untersuchungsmethoden betrachtet werden.

B) METHODEN UND MATERIAL

Nach einer glatten Venenpunktion wurden die ersten 5 cm³ Blut verworfen und danach 9 cm³ mit 1 cm³ 3,8%iger Na-Citratlösung in silikonierten Zentrifugenröhrchen gemischt. Ein Teil des Blutes wurde bei 4500 rpm für 20 min. zentrifugiert und das gewonnene plättchenarme Plasma bei -20 C aufbewahrt. Bei jedem Patienten wurden die Globaltests am Tag der Abnahme aus frischem Citratblut bzw. -plasma durchgeführt. 10 Tage später wurde dann aus dem eingefrorenen Plasma dieses Patienten innerhalb eines Tages die Faktoren bestimmt. Alle Untersuchungen wurden im Wasserbad bei 37 C durchgeführt.

I. Globaltests

1. Thrombotest nach OWREN

Originalmethode aus Kapillarblut

2. Prothrombinzeit nach QUICK

Als Thrombokinase wurde eine 0,9%ige NaCl-Suspension aus azetongetrocknetem menschlichen Hirn verwendet. Jeweils 0,1 ml Citratblut + 1 gt Thrombokinasesuspension + 0,1 ml 0,025 M CaCl₂ wurden auf einer im Wasserbad bei 37 C vorgewärmten Tüpfelplatte gemischt und der Beginn der Gerinnung durch den ersten Fibrinfaden, der an einer durchgezogenen Platinöse hängen blieb, bestimmt. Durch entsprechende Verdünnung eines normalen Blutes konnte eine Eichkurve aufgestellt und die Gerinnungsaktivität aller Fälle in Prozent abgelesen werden.

3. Partielle Thromboplastinzeit (PTT) mod. nach FISCHER

Von jedem Patienten wurde die PTT aus Vollblut (Vollblut-PTT) und aus Plasma, das durch Zentrifugieren bei 2500 rpm für 20 min. gewonnen worden war (Plasma-PTT), bestimmt. Als partielle Thrombokinase wurde Tachostyptan (HORMON Chemie München) verwendet und 1:50 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Je 0,2 ml Citratblut (bzw. -plasma) und 0,2 ml Tachostyptan wurden 30 sec. in gut benetzbaren

WaR-Röhrchen vorgewärmt und dann bei der Vollblut-PTT mit 0,2 ml 0,025 M CaCl_2 bzw. bei der Plasma-PTT mit 0,2 ml 0,035 M CaCl_2 versetzt. Die Bildung eines festen Gerinnsels bestimmte den Endpunkt.

4. Partielle Thromboplastinzeit mit Kaolin (Kaolin-PTT)

Reagentien:

- a) Citratplasma (2500 rpm/20 min.)
- b) Tachostyptan (HORMON Chemie München) 1:25 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt
- c) Kaolin (HEILMITTELWERKE Wien) suspendiert in physiologischer Kochsalzlösung
Konzentration: 40 ml/ml physiolog. NaCl
- d) 0,035 M CaCl_2

In einem vorgewärmten nicht silikonierten WaR-Röhrchen wurden 0,2 ml Plasma mit 0,2 ml Tachostyptan-Kaolin-Gemisch (1:1) für 4 bis 10 min. inkubiert, nach Zugabe von 0,2 ml 0,035 M CaCl_2 30 sec. stehen gelassen und danach alle 5 sec. bis zur Ausflockung des Kaolins geneigt.

II. Quantitative Bestimmung der Blutgerinnungsfaktoren VII, IX und X

Bei den folgenden vier Methoden konnte durch Verdünnung eines Normalplasma-Pools aus 30 gesunden Spendern eine Eichkurve aufgestellt und der Faktorengehalt in Prozent angegeben werden.

1. Faktor IX

Als Substrat-Mangelplasma wurde dasjenige eines Patienten verwendet, dessen Faktor IX Spiegel unter 1 % lag. Die Bestimmung selbst erfolgte mit der normalen PTT, wobei anstelle der 0,2 ml Testplasma 0,1 ml Substrat-Mangelplasma + 0,1 ml Testplasma verwendet wurden.

2. Faktor X nach HOUGIE

Als Substrat-Mangelplasma wurde ein Gemisch aus gleichen Teilen BaSO_4 adsorbiertem Rinderplasma und Bentonit adsorbiertem Human-

plasma verwendet. Ferner wurde eine Stypven Stammlösung hergestellt, indem 1 Ampulle Stypven (BORROUGH and WELCOME & CO, London) in 8 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und mit 2 ml Tachostyp-
tan (HORMON Chemie München) versetzt wurde. Je 0,2 ml Substrat-
Mangelplasma + 0,1 ml Testplasma (1:10 mit Oxalatpuffer verdünnt)
+ 0,1 ml 0,05 M CaCl_2 wurden auf eine vorgewärmte Tüpfelplatte
gebracht und mit einer durchgezogenen Platinöse wurde die Zeit, die
zur Bildung eines Gerinnsels nötig war, bestimmt.

3. Faktor VII/X - Bestimmung

Die Methode entsprach der Faktor X Bestimmung nach HOUGIE, nur
wurde statt des Stypvens Thrombokinase aus Menschenhirn zum Test-
system dazugegeben.

4. Faktor VII nach LECHNER und DEUTSCH

Nach Angaben der Autoren wurde durch Chromatographie an DEAE-
Zellulose ein antithrombinisches Monoclonale hergestellt. Als Ausgangsmenge
wurden 50 ml menschliches Citratblut verwendet. Das daraus gewonnene
plättchenarme Plasma wurde mit 0,15 M NaCl auf 50 ml verdünnt und
auf eine Säule aus 1 g DEAE-Zellulose aufgebracht. Die nach voll-
ständiger Elution verbleibenden Anteile wurden in der Säule belassen.
Reste von Plasma wurden durch Nachwaschen mit Citratkochsalzlösung
(1 Teil 3,8%iges Natriumcitrat + 9 Teile 0,15 M NaCl) entfernt.
Danach wurde die Citratkochsalzlösung durch einen 0,02 M Phosphat-
puffer (pH 7,0), der 1,0 M NaCl enthielt, ersetzt. Die Faktor II und
X enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und über Nacht gegen ein
100faches Volumen Citratkochsalzlösung (1:5) bei 4 C dialysiert. Am
nächsten Tag wurde das Dialysat mit Citratkochsalzlösung (1:5) so ver-
dünnt, dass die Aktivität von Faktor II und Faktor X 80 % oder etwas
darüber war. Diese Lösung wurde mit BaSO_4 adsorbiertem Rinderplasma
(als Quelle für Fibrinogen und Faktor V) im Verhältnis 1:1 gemischt
und in kleinen Portionen im Azetontrockeneisgemisch eingefroren.

Bei -20 C war das Reagenz mindestens 1 Monat stabil.

Je 0,1 ml artifizielles Mangelplasma + 0,1 ml Testplasma (1:10 mit Oxalatpuffer verdünnt) + 1 gt Thrombokinas suspension + 0,1 ml 0,05 M CaCl_2 wurden auf eine vorgewärmte Tüpfelplatte gebracht und mit einer durchgezogenen Platinöse wurde die Zeit die zur Bildung eines Gerinnsels nötig war, bestimmt.

III. Krankengut

Insgesamt wurden 94 Patienten untersucht. Davon erhielten 21 Personen weder Marcumar noch lag bei ihnen klinisch ein Anhaltspunkt für eine hämorrhagische Diathese vor. 61 Patienten standen längere Zeit unter Antikoagulantientherapie (Marcumar). Die restlichen 12 Patienten hatten einen isolierten Faktoren-Mangel (Faktor VIII, IX oder XI). Bei allen Patienten wurde die Globaltests durchgeführt und darüber hinaus wurden bei 27 der 61 AK-Patienten sowie bei den 12 Patienten mit einer primären hämorrhagischen Diathese die Gerinnungsfaktoren bestimmt.

C) ERGEBNISSE

I. Kaolin-PTT

Bei der Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit mit Kaolin stellte sich heraus, dass die Gerinnungszeiten um so kürzer wurden, je länger das Tachostyptan-Kaolin-Gemisch auf das Plasma einwirkte. Um festzustellen, welcher der drei Reaktionspartner (das Kaolin, das Tachostyptan oder das Tachostyptan-Kaolin-Gemisch) dafür verantwortlich war, wurden zuerst nur Plasma und Tachostyptan von 1:10 bis 1:1000 inkubiert (Abbildung 1 Kurve A). Dabei blieben die Werte konstant. Eine deutliche Zeitverkürzung innerhalb von 4 Minuten trat ein, wenn an Stelle des Tachostyptans die reine Kaolinsuspension auf das Plasma wirkte (Abbildung 1 Kurve B). Durch Inkubation des Tachostyptan-Kaolin-Gemisches konnten jedoch bei gleichem Verlauf der Inkubationskurve noch niedrigere Werte erzielt werden, wobei die kürzesten Zeiten nach einer Inkubation von 4 Minuten erreicht wurden und dann konstant blieben (Abbildung 1 Kurve C).

Auch bei der Verwendung von unterschiedlichen Kaolinkonzentrationen im Tachostyptan-Kaolin-Gemisch ergaben sich bei Gerinnungszeiten ab, blieben dann ein paar Minuten konstant und stiegen durch Inaktivierung des Plasmas wieder an. Die niedrigsten Werte ergaben sich bei einer Konzentration von 20 mg/ml Kaolin im Tachostyptan-Gemisch. Bei einer Verdünnung des Testgemisches auf 1:1000000 ergaben sich die kürzesten Gerinnungszeiten (Abbildung 2). Auch wäre es am günstigsten, in dem Test 20 mg/ml Kaolin zu verwenden, jedoch ist eine Ausflockung des Kaolins beim Endpunkt erst bei einer Konzentration von 40 mg/ml deutlich sichtbar.

Um die optimale Tachostyptankonzentration für die Kaolin-PTT zu ermitteln, wurde eine Verdünnungsreihe des Tachostyptans von konzentriert bis 1:10 000 aufgestellt. Eine geringe Zeitverkürzung zeigte sich schon bei einer Verdünnung von 1:10 000. Mit steigender Konzentration nahm die Gerinnungszeit ab,

bis sie bei einer Verdünnung von 1:25 ihren niedrigsten Wert erreichte. Eine weitere Konzentrationszunahme führte zur Verlängerung der Kaolin-PTT (Abbildung 3).

Von der Thrombozytenzahl im Plasma wurde die Kaolin-PTT nicht beeinflusst. Trotz unterschiedlicher Zentrifugengeschwindigkeiten blieben die Gerinnungszeiten konstant (Tabelle I).

Zusammenfassend ergibt sich, dass die Methode von der Kaolin- und der Tachostyptankonzentration und von der Inkubationszeit des Tachostyptan-Kaolin-Gemisches abhängig ist, nicht aber vom Thrombozytengehalt des Plasmas. Als optimal für die Durchführung der Methode wäre eine Kaolinkonzentration von 40 mg/ml, eine Tachostyptanverdünnung von 1:25 und eine mindestens 4 minütige Inkubation des Tachostyptan-Kaolin-Gemisches mit dem Plasma vorzuschlagen.

II. Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden

1. Im Gegensatz zur normalen PTT aus Vollblut und Plasma wurde durch die Zugabe des Kaolins eine vollständige Oberflächenaktivierung erreicht. Bei der Untersuchung ein und desselben Plasmas in silikonierten und nicht silikonierten WaR-Röhrchen blieben die Zeiten des Kaolin-PTT konstant, während die der Vollblut- und Plasma-PTT sich verringerten, wenn diese Tests in normalen Röhrchen durchgeführt wurden. Demnach erfolgt bei der Bestimmung der normalen PTT in gut benetzbaren WaR-Röhrchen ebenfalls eine Aktivierung der Oberflächenfaktoren, die jedoch nicht vollständig ist, da ihre Zeiten immer länger blieben als die der Kaolin-PTT (Tabelle II).

Die aus dem Plasma von 21 gerinnungsnormalen Patienten bestimmten Mittelwerte sind in Tabelle III aufgeführt. Statistisch liess sich durch einen t-Test nur der Unterschied der Mittelwerte zwischen den nicht aktivierten PTT-Methoden und der aktivierten PTT sichern. Das gleiche gilt auch für die Differenz der Standardabweichungen, die mittels eines f-Tests überprüft

wurde (Tabelle IV). Für den Normalbereich besteht folglich kein Unterschied zwischen der Vollblut-PTT und der Plasma-PTT, während die Kaolin-PTT einen niedrigeren Mittelwert und eine geringere Standardabweichung aufweist.

Auch im pathologischen Bereich ergaben sich bei ein und demselben Patienten sehr unterschiedliche Gerinnungszeiten in den nicht aktivierten PTTs, während die Kaolin-PTT nur geringe Abweichungen der einzelnen Werte zeigte. Besonders bei Patienten, die unter Antikoagulantientherapie standen und deren Gerinnungsaktivität unter 5 % Thrombotest lag, und bei Patienten mit einem schweren isolierten Faktorenmangel (Faktor VIII bzw. Faktor XI) trat dies in Erscheinung (Tabelle V).

Die aus dem Blut der gerinnungsnormalen und der AK-Patienten ermittelten Zeiten für die Vollblut-PTT, Plasma-PTT und Kaolin-PTT wurden in einem einfachen Koordinatensystem gegeneinander aufgetragen (Abbildung 4 und 5). Es zeigte sich ein stärkerer Zusammenhang zwischen der Kaolin-PTT und der Plasma-PTT als zwischen der Kaolin-PTT und der Vollblut-PTT, was sich durch die errechneten Korrelationskoeffizienten bestätigte (Tabelle VI). Da bei einem Freiheitsgrad $F = 80$ der Zufallshöchstwert $r_0 = 0,327$ beträgt und damit kleiner ist als $r_{\text{Vollblut-PTT}}$ oder $r_{\text{Plasma-PTT}}$, kann die Korrelation als gesichert angesehen werden. Neben den Korrelationskoeffizienten wurden auch für die x -Werte die Regressionskoeffizienten berechnet. Demnach nahmen, wenn die Kaolin-PTT sich um 10 sec. verlängerte, die Vollblut-PTT im Durchschnitt um 13,3 und die Plasma-PTT um 14,8 sec. zu.

2. Abhängigkeit der geprüften PTT-Methoden bei Patienten mit hämorrhagischen Diathesen

In Tabelle VII wurden die Gerinnungszeiten von Patienten eingetragen, die zwar nicht unter Antikoagulantientherapie standen, bei denen aber dennoch ein oder mehrere Faktoren (Faktor VIII, Faktor IX bzw. Faktor XI) erniedrigt waren. So ergab sich z.B. bei dem Patienten Pa. eine Kaolin-PTT von 54,4 sec. Diesem Wert entsprach auf der Regressionsgeraden eine Vollblut-PTT von

88,6 sec. Die im Blut bestimmte Vollblut-PTT betrug aber 100,6 sec. und die Differenz zwischen der zu erwartenden und der erhaltenen Zeit wurde mit + 12,0 in der Kolonnen D-PTT angegeben. D.h. sind die Werte in dieser Kolonnen positiv, dann ist die Kaolin-PTT im Vergleich zur Vollblut-PTT bzw. Plasma-PTT zu kurz, oder die Zeiten der Vollblut-PTT bzw. Plasma-PTT sind zu lang im Vergleich zur Kaolin-PTT. Negative Werte weisen dementsprechend auf eine zu lange Kaolin-PTT oder eine zu kurze Vollblut-PTT bzw. Plasma-PTT hin.

Nimmt man die dreifache mittlere Abweichung der x-Werte von der Regressionsgeraden als Tolleranzbereich (siehe Tabelle VI), dann zeigt sich, dass bei einer schweren Hämophilie A, bei einem PTA-Mangel und bei einer Verbrauchs-koagulopathie nicht aus der Kaolin-PTT auf den zu erwartenden Wert der Vollblut-PTT oder Plasma-PTT geschlossen werden kann, wenn man dazu die an AK-Patienten gewonnene Korrelation verwendet. Demnach hat die bei anti-koagulierten Patienten gefundene Beziehung zwischen Kaolin-PTT und Vollblut-PTT bzw. Plasma-PTT für Patienten mit primären hämorrhagischen Diathesen keine Gültigkeit.

3. Abhängigkeit der PTT-Methoden vom Faktor IX Spiegel bei Antikoagulierten Patienten

Um die Abhängigkeit der drei Methoden vom Faktor IX Spiegel im Plasma von AK-Patienten zu beurteilen, wurden in einem bilogarithmischen Millimeterpapier die Zeiten der PTTs gegen den entsprechenden Faktor IX Gehalt in Prozent aufgetragen (Abbildung 6, 7 und 8). War der Faktor IX geringer als 20 %, dann ergaben sich verlängerte Gerinnungszeiten, stieg er über 40 %, dann waren die drei PTTs normal. Durch die Bestimmung der Korrelationskoeffizienten konnte eine starke Abhängigkeit zwischen den PTTs und dem Faktor IX nachgewiesen werden (Tabelle VIII). Da für den Freiheitsgrad $F = 25$ der Zufallshöchstwert $r_0 = 0,554$ und damit kleiner als $r_{\text{Vollblut-PTT}}$, $r_{\text{Plasma-PTT}}$ oder $r_{\text{Kaolin-PTT}}$ ist, lassen sich die Korrelationen statistisch sichern.

Ferner wurde nach der Methode von HOSEMAN (1949) überprüft, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Korrelationskoeffizienten besteht. Wie aus Tabelle VIIIa ersichtlich, lässt sich die Differenz zwischen $r_{\text{Kaolin-PTT}}$ und $r_{\text{Vollblut-PTT}}$ statistisch sichern, während dies nicht für den Vergleich von $r_{\text{Vollblut-PTT}}$ und $r_{\text{Plasma-PTT}}$ sowie $r_{\text{Kaolin-PTT}}$ und $r_{\text{Plasma-PTT}}$ zutrifft.

4. Abhängigkeit der PTT-Methoden vom Faktor X Spiegel bei Antikoagulierten Patienten

Ähnliche Ergebnisse wurden beim Vergleich der Vollblut-PTT, Plasma-PTT und Kaolin-PTT mit dem Faktor X gefunden. Sank der Faktor X Spiegel im Plasma jeweils unter 19 %, dann wiesen alle drei PTTs deutlich verlängerte Zeiten auf, stieg er über 40 %, dann lagen die Werte im Normalbereich. Verglichen mit den beiden nicht aktivierten PTTs scheint die Korrelation zwischen der Kaolin-PTT und dem Faktor X am stärksten zu sein (Abbildung 9, 10 und 11).

5. Beziehung zwischen den geprüften PTT-Methoden und dem Thrombotest

In einem bilogarithmischen System wurden die Gerinnungszeiten der PTTs gegen die Thrombotestwerte (TT) in Prozent aufgetragen (Abbildung 12, 13 und 14). Bei einem $TT < 12$ % war die Kaolin-PTT verlängert, während die Vollblut-PTT noch bei $TT = 6,7$ % einen und die Plasma-PTT im Bereich von 6 bis 8 % TT drei normale Zeiten aufwies. Dabei bestand eine bedeutend stärkere Korrelation zwischen der Kaolin-PTT und dem Thrombotest als zwischen den nicht aktivierten PTTs und dem Thrombotest (Tabelle IX).

Statistisch liess sich der Unterschied von $r_{\text{Kaolin-PTT}}$ und $r_{\text{Vollblut-PTT}}$ bzw. $r_{\text{Plasma-PTT}}$ sichern, während dies für die Differenz von $r_{\text{Vollblut-PTT}}$ und $r_{\text{Plasma-PTT}}$ nicht der Fall war (Tabelle IXa).

Zusammenfassend kann man sagen, dass bei antikoagulierten Patienten die Beziehung zwischen der Verminderung der Faktoren IX und X und der Kaolin-PTT am besten ist, während die Beziehungen mit der Plasma-PTT und der

Vollblut-PTT schlechter sind. Dasselbe gilt für die Beziehung zwischen den drei PTTs und dem Thrombotest. Auch hier besteht ein stärkerer Zusammenhang zwischen der Kaolin-PTT und dem Thrombotest als zwischen den nicht aktivierten PTTs und dem Thrombotest.

6. Beziehung zwischen Thrombotest und der Verminderung der Gerinnungsfaktoren VII, IX und X bei Patienten mit Antikoagulantienbehandlung

Um zu überprüfen, welche Abhängigkeit zwischen dem Thrombotest und einzelnen Plasmafaktoren besteht, wurden der Faktor IX, Faktor X und Faktor VII bestimmt. Wie aus den in Tabelle X aufgeführten Korrelationskoeffizienten ersichtlich ist, zeigte der Thrombotest zur Faktor VII/X - Bestimmung eine vollständige, zum Faktor X eine starke, zum Faktor VII eine mittelstarke und zum Faktor IX nur eine schwache Korrelation (siehe auch Abbildung 15, 16, 17 und 18). Da auch hier r_o jeweils kleiner als r ist, lassen sich die Korrelationen statistisch sichern. Folglich weist die Faktor VII/X - Bestimmung im Vergleich zu den Faktoren VII, IX und X die beste Beziehung zum Thrombotest auf.

7. Vergleich von Thrombotest und Prothrombinzeit bei antikoagulierten Patienten

Schliesslich wurden die Thrombotestwerte mit den gleichzeitig bestimmten Prothrombinzeiten verglichen (Abbildung 19). Durch die Errechnung des Regressionskoeffizienten $b_x = 0,706$ konnte nachgewiesen werden, dass bei einer Zunahme der PTZ um 10 % der Thrombotest im therapeutischen und nicht therapeutischen Bereich durchschnittlich nur um 7 % ansteigt. Zwischen beiden Methoden bestand eine starke Abhängigkeit (Korrelationskoeffizient $r = 0,845$).

8. Zwölf der 61 untersuchten AK-Patienten hatten einen Thrombotestwert von unter 5 %. Aus dieser Gruppe wurden bei vier Personen neben den Global-

tests auch die Gerinnungsfaktoren VII, IX und X bestimmt (Tabelle XI). Der PTZ- und der Thrombotestwert der Patienten Tl. und Tn. lag unterhalb des therapeutischen Bereichs, die Faktoren VII, IX und X waren stark erniedrigt und die PTTs dementsprechend verlängert. Im Gegensatz dazu wurden bei den Patienten R. und S. im Plasma ein relativ hoher Gehalt an Faktor VII und Faktor X gefunden, was sich in der jeweiligen Prothrombinzeit widerspiegelte. Auf den hier stark verminderten Faktor IX und die damit verbundene Blutungsgefahr wiesen jedoch nur die deutlich erhöhten Gerinnungszeiten der PTTs und der stark erniedrigte Thrombotest hin.

D) DISKUSSION

1. Die von LANGDELL (1953) entwickelte PTT ist eine empfindliche Nachweismethode für Störungen im endogenen Gerinnungssystem. Im zentralen Gerinnungslaboratorium an der 1. Med. Univ. Klinik in Wien wurde sie bisher aus Citratblut in normalen gut benetzbaren War-Röhrchen bestimmt. Durch den Kontakt der Glaswände mit dem Plasma erfolgte eine teilweise Aktivierung der Oberflächenfaktoren, die jedoch nicht konstant war, da sie vom Zustand der einzelnen Röhrchen abhing. So ergaben sich mitunter bei ein und demselben Patienten sehr unterschiedliche Gerinnungszeiten. In dieser Arbeit wurde überprüft, ob durch vollständige Oberflächenaktivierung durch Zusatz von Kaolin die Verlässlichkeit der Methode verbessert werden könnte. Dabei zeigte sich, dass bei der Verwendung der Kaolin-PTT sich sowohl die Gerinnungszeit des Normalwertes als auch die Standardabweichung verringerten.

Bei gleichzeitiger Inkubation von Plasma und Kaolin vor der Rekalzifizierung nahmen in den ersten Minuten die Gerinnungszeiten ab, d.h. die Oberflächenfaktoren benötigen eine bestimmte Zeit um maximal aktiviert zu werden. Wurde an Stelle des reinen Kaolins ein Tachostyptan-Kaolin-Gemisch mit dem Plasma inkubiert, dann ergaben sich noch kürzere Gerinnungszeiten. Anscheinend kommt es durch die Kombination des Lipids mit dem Aktivierungsmaterial zu einer günstigeren Verteilung des Kaolins im Plasma, da auf diesem Weg die maximale Oberflächenaktivierung in kürzester Zeit erreicht wurde.

Zwischen der Kaolin-PTT und den nicht vollaktivierten PTTs bestand ein starker Zusammenhang, wobei die Kaolin-PTT eher der Plasma-PTT als der Vollblut-PTT entsprach. Dies ist sicherlich auf den unterschiedlichen Hämatokrit bei den einzelnen Patienten zurückzuführen, der in der Untersuchung nicht berücksichtigt wurde.

Zu den Faktoren IX und X zeigte die Kaolin-PTT eine bessere Korrelation als die beiden anderen PTT-Methoden, d.h. die Wahrscheinlichkeit, aus der Gerinnungszeit der Kaolin-PTT auf den Faktor IX- oder X-Spiegel im Plasma von

antikoagulierten Patienten zu schliessen, ist bei ihr am grössten. Sie ist jedoch nicht empfindlicher gegen eine Verminderung dieser Faktoren, da auch bei ihr erst dann verlängerte Gerinnungszeiten auftraten, wenn der Plasmaspiegel der beiden Faktoren weniger als 20 % betrug.

Der Vorteil der Kaolin-PTT besteht darin, dass mit ihr der Endpunkt der Gerinnung bedeutend genauer zu bestimmen ist und dass die Gerinnungszeiten kürzer sind. Die Kaolinsuspension kann in grösseren Mengen hergestellt und bei + 4 C gelagert werden. Die täglich frische Zubereitung des Tachostyptan-Kaolin-Gemisches nimmt relativ wenig Zeit in Anspruch. Bei jeder Bestimmung muss jedoch mindestens vier Minuten inkubiert werden. Daher kann die Methode bei einer grösseren Anzahl von Patienten mehr Zeit kosten als normale nicht vollaktivierte PTT aus Vollblut oder Plasma. Eine stark verlängerte Kaolin-PTT sagt nicht mehr aus als eine entsprechend verlängerte Vollblut- bzw. Plasma-PTT. Alle drei weisen nur umfassend auf eine Störung im endogenen Gerinnungssystem hin, zur weiteren Differenzierung müssen andere Methoden (Faktorenbestimmung etc.) verwendet werden. Bei der Routineuntersuchung im Gerinnungslaboratorium sollte die Kaolin-PTT nur für Patienten, die einmal eine normale, das andere mal eine gering verlängerte Vollblut- oder Plasma-PTT haben, zur genaueren Bestimmung herangezogen werden.

II. Ein bis heute noch umstrittenes Gebiet ist die Kontrolle der Antikoagulationstherapie. Bei der Behandlung mit Cumarin- oder Phenylindandionderivaten werden die Faktoren II, VII, IX und X vermindert. Die Prothrombinzeit (PTZ) nach QUICK erfasst durch die Verwendung einer kompletten Thrombokinase im Testsystem ausser Faktor V nur die Faktoren II, VII und X. Nach OWREN (1962) sind jedoch 25 % aller Blutungskomplikationen auf ein zu starkes Absinken des Faktors IX zurückzuführen. Ein weiteres Verfahren, das auch in jedem kleineren Labor durchgeführt werden kann, ist der Thrombotest (TT) nach OWREN (1959, 1962). In dieser Methode wird das endogene System durch ein Kephalinpräparat aus menschlichem Hirn oder Soyabohnen aktiviert und

das exogene System durch die Verwendung einer Rinder- oder Pferdehirn-thrombokinase mit geringer Aktivität nicht voll aktiviert. In der hier vorliegenden Arbeit wurde überprüft, ob der Thrombotest imstande ist, die bei antikoagulierten Patienten auftretende Verminderung der Faktoren VII, IX und X anzuzeigen. Dabei ergab sich, dass zwischen dem TT und dem Faktor X eine starke und zwischen dem TT und Faktor VII eine mittelstarke Abhängigkeit besteht. Die beste Korrelation wurde zu der Faktor VII/X Bestimmungs-Methode befunden, die ja sicherlich durch beide Faktoren beeinflusst wird. Strittig ist, in wie weit Faktor IX Veränderungen in dem gerade dafür modifizierten Thrombotest sich widerspiegeln. DEUTSCH und FISCHER (1961) fanden bei Hämophilie B Patienten signifikant niedrigere TT-Werte verglichen mit der PTZ, was sie als partielle Empfindlichkeit gegen Verminderungen dieses Faktors deuteten. Bei der Ueberwachung der Antikoagulantientherapie mit der PTZ als auch mit dem TT zeigte sich sowohl bei VIGRAN (1961) als auch bei FISCHER (1964²), dass im therapeutischen und nicht therapeutischen Bereich die Thrombotestwerte niedriger sind als die der PTZ. OWREN (1959) wies darauf hin, dass durch die Konzentration des Cephalins in dem Thrombotestreagens nur ein extremes Absinken des Faktors IX ($< 10\%$) bestimmt wird, wenn die anderen Faktoren ebenfalls niedrige Werte aufweisen. D.h. bei intaktem exogenen System und einem isolierten Faktor IX Mangel ist die Thrombotestzeit nur gering verlängert.

Aus den hier durchgeführten Untersuchungen hat sich ergeben, dass die Korrelation zwischen dem TT und dem Faktor IX nur schwach und im Vergleich zu den Faktoren VII und X am schlechtesten ist. Dementsprechend kann man aus einem vorliegenden Thrombotestwert nicht ohne weiteres auf den Faktor IX Spiegel im Plasma von antikoagulierten Patienten schließen. Darüberhinaus zeigte der TT jedoch entsprechend den Angaben von OWREN eine gute Empfindlichkeit gegen ein extremes Absinken des Faktors IX bei gleichzeitig verminderten Faktoren VII und X. Bei den oben erwähnten vier Patienten lag der Faktor IX Spiegel jeweils unter 10% , was sich nur in zwei Fällen in der entsprechend verminderten PTZ widerspiegelte, während in allen Fällen der

TT unter 5 % und damit ausserhalb des therapeutischen Bereichs lag.

Eine gute Ueberwachung der Antikoagulantientherapie ist auch heute noch mit der PTZ möglich, wobei allerdings bei PTZ-Werten um 15 % eine der drei PTT-Methoden herangezogen werden sollte, um ein zu starkes Absinken des Faktors IX zu erfassen. Ist die Gerinnungszeit der Kaolin-PTT länger als 70 sec. und die der Vollblut- oder Plasma-PTT länger als 110 sec., dann deutet das auf einen Faktor IX Spiegel unter 10 % hin. Demgegenüber scheinen diese zusätzlichen Untersuchungen bei der Verwendung des Thrombotests nicht notwendig zu sein, da hier durch ein Absinken des Thrombotest unter 5 %, d.h. unterhalb des therapeutischen Bereichs, schon frühzeitig eine Verminderung des Faktors IX und die damit verbundene Blutungsgefahr angezeigt wird.

E) ZUSAMMENFASSUNG

Bei 94 teils gerinnungsnormalen, teils antikoagulierten, teils hämophilen Patienten wurde das Gerinnungssystem durch Globaltests (PTZ, TT, PTT) und durch quantitative Bestimmung der Blutgerinnungsfaktoren VII, IX und X überprüft. Es wurde dann die durch Kaolin aktivierte PTT mit der nicht vollständig aktivierten PTT aus Vollblut bzw. Plasma verglichen und bestehende Korrelationen dieser drei Methoden zu anderen im Gerinnungslaboratorium vor allem bei der Kontrolle der Antikoagulantientherapie gebräuchlichen Untersuchungsmethoden betrachtet. Dabei ergaben sich folgende Ergebnisse:

1. Die Kaolin-PTT weist im Vergleich zu den nicht vollständig aktivierten PTT-Methoden aus Plasma oder Vollblut eine grössere Genauigkeit der Methode auf. Sie ist jedoch nicht empfindlicher gegenüber einer Verminderung der Faktoren IX und X im Plasma von antikoagulierten Patienten und bei dem Verfahren ist eine mindestens vier minütige Inkubation des Tachostyptan-Kaolin-Gemisches mit dem Patientenplasma notwendig. Es wird daher empfohlen, diese Methode zur Erfassung endogener Gerinnungsstörungen bei der Routineuntersuchung im Gerinnungslaboratorium nur bei Patienten, die einmal eine normale, das andere mal eine gering verlängerte Vollblut- oder Plasma-PTT haben, zur genaueren Bestimmung heranzuziehen.
2. Mit der Prothrombinzeitbestimmung nach QUICK ist auch heute noch eine ausreichende Kontrolle der Antikoagulantientherapie möglich, wobei allerdings bei Quickwerten um 15 % eine der drei PTT-Methoden bestimmt werden sollte, um ein zu starkes Absinken des Faktors IX zu erfassen. Diese zusätzlichen Untersuchungen sind bei der Verwendung des Thrombotests nicht notwendig, da hier frühzeitig ein extremes Absinken des Faktors IX angezeigt wird.

TABELLEN

Tabelle I

Zentrifugengeschwindigkeit	Kaolin-PTT sec.
500 rpm/15 min	36,5
2500 rpm/20 min	37,0
4500 rpm/30 min	36,3

Mittelwerte von jeweils 6 Bestimmungen aus dem Plasma eines gerinnungsnormalen Patienten.

Tabelle II

	Kaolin-PTT sec.	Vollblut-PTT sec.	Plasma-PTT sec.
Glas	36,2	63,9	75,5
Silikon	36,6	161,3	206,0

Mittelwerte von jeweils 6 Bestimmungen aus dem Plasma eines gerinnungsnormalen Patienten.

Tabelle III

	Methode	Mittelwert x	Standardabweichung
1	Vollblut-PTT	64,2	$\pm 5,1$
2	Plasma-PTT	66,3	$\pm 5,2$
3	Kaolin-PTT	36,5	$\pm 3,3$

Tabelle IV

Methode	Freiheits- grad F	t	P	Freiheits- grad F ₁	F ₂	f	P
1/2	40	1,32	>5%	20	20	1,04	>5%
2/3	40	22,07	<1%	20	20	2,54	5% > P > 1%
1/3	40	20,82	<1%	20	20	2,38	5% > P > 1%

Tabelle V

Diagnose	Patient	Vollblut-PTT sec.		Plasma-PTT sec.		Kaolin-PTT sec.	
AK-Therap.	T.	123,9	140,8	139,8	148,7	84,0	84,0
	< 5% TT	134,0	135,5	142,4	143,0	84,5	85,1
AK-Therap.	K.	80,1	84,5	91,0	85,2	56,8	56,6
	8,1% TT	86,3	84,7	88,0	88,5	56,9	57,0
PTA-Mangel	Mr.	215,0	205,0	238,0	232,1	117,4	118,0
	F.XI 1%	228,2	196,8	242,2	230,2	119,6	117,0
Hämophilie	Mt.	360,0	370,0	457,0	455,5	127,2	124,5
	F.VIII 0,2%	412,0	403,0	447,0	467,0	126,1	128,0

Tabelle VI

Methode		Korrelations- koeffizient	Regres- sionskoeffi- zient b _x	Mittlere x-Werte geraden	Abweichung der v.d. Regressions- b _x
x	y	r			
Vollblut-PTT	Kaolin-PTT	0,892	1,33		8,39
Plasma-PTT	Kaolin-PTT	0,923	1,48		7,77

Tabelle VII

Patient	Diagnose	Vollblut- PTT	Plasma- PTT	Kaolin- PTT	D-Vollblut- PTT	D-Plasma PTT
L.	V S D F.VIII 65%	75,6	75,9	42,3	+ 3,9	+ 0,8
Mr.	A S D F.VIII 55%	68,4	78,0	43,4	- 4,9	+ 1,2
Pa.	Hämoph. A F.VIII 15%	100,6	123,7	54,5	+ 12,0	+ 30,4
F.	Hämoph. A F.VIII 10%	91,2	100,7	68,7	- 17,4	- 14,0
Sch.	Hämoph. A	201,3	262,1	84,5	+ 70,8	+ 123,6
I.	Hämoph. A F.VIII 0,24%		360,0	149,2		+ 125,0
Pl.	Hämoph. A F.VIII 0,75%	375,0	420,0	106,6	+ 213,3	+ 247,6
Mt.	Hämoph. A F.VIII 0,2%	407,0	457,0	126,7	+ 217,0	+ 259,0
W.	Hämoph. B F.IX 26%	125,7	175,3	66,1	+ 10,7	+ 44,9
Ma.	PTA-Mangel F.XI 0,5%	291,9	258,8	141,6	+ 81,3	+ 61,7
Ma.	PTA-Mangel F.XI 1%	210,0	235,0	117,7	+ 32,8	+ 46,7
H.	Verbrauchs- koagulopath.	109,3	107,6	86,6	- 23,9	- 34,0

Tabelle VIII

Methode		Korrelations- koeffizient	Korrelations- ziffer
x	y	r	z
F.IX/Kaolin-PTT		- 0,932	1,67
F.IX/Plasma-PTT		- 0,896	1,45
F.IX/Vollblut-PTT		-0,842	1,22

Tabelle VIII a

Vergleich von	$ z_1 - z_2 $	$3 \cdot d$	$z_1 - z_2$	statistische Sicherung
r_{K-PTT}/r_{V-PTT}	0,45	>	0,29	ja
r_{K-PTT}/r_{PI-PTT}	0,22	<	0,29	nein
r_{V-PTT}/r_{PI-PTT}	0,23	<	0,29	nein

Tabelle IX

Methode		Korrelationskoeffizient	Korrelationsziffer	Zufallshöchstwert für $F = 47$
x	y	r	z	r_o
TT/Kaolin-PTT		- 0,896	1,47	0,418
TT/Plasma-PTT		- 0,769	1,02	0,418
TT/Vollblut-PTT		- 0,749	0,97	0,418

Tabelle IXa

Vergleich von	$ z_1 - z_2 $	$3 \cdot d$	$z_1 - z_2$	statistische Sicherung
r_{K-PTT}/r_{V-PTT}	0,50	>	0,20	ja
r_{K-PTT}/r_{PI-PTT}	0,47	>	0,20	ja
r_{V-PTT}/r_{PI-PTT}	0,05	<	0,20	nein

Tabelle X

Thrombotest in Abhängigkeit von	Korrelations- koeffizient r	Freiheitsgrad F	Zufallshöchst- wert r _o
F.IX	0,621	19	0,620
F.X	0,935	19	0,620
F.VII/X	0,963	13	0,716
F.VII	0,760	18	0,634

Tabelle XI

Patient	TT	PTZ	F.VII	F.X	F.IX	Vollblut- PTT	Plasma- PTT	Kaolin- PTT
	%	%	%	%	%	sec.	sec.	sec.
TI.	< 5	< 10	< 10	< 10	5	134,8	142,7	84,1
Tn.	< 5	< 10	< 10	< 10	6,5	131,8	131,0	77,2
R.	< 5	14	21	13	5,5	141,7	140,9	84,6
S.	< 5	14,5	15	14	9,5	114,3	125,2	75,5

BIBLIOGRAFIE

- Alexander, B., Goldstein, R., Landwehr, G., Cook, C.D.
Congenital SPCA deficiency: a hitherto unrecognized coagulation defect with hemorrhage rectified by serum and serum fractions.-
J.Clin.Invest. 30 : 596 (1951)
- Barth, P., Kommerell, B., Pfeleiderer, Th.
The effect of the contact factors of the coagulation system on platelett aggregation.- Thrombos.Diathes.haemorrh. 16 : 378 (1966)
- Bell, W.N., Alton, H.G.
A brain extract as a substitute for platelett suspensions in the thromboplastin generation test. -
Nature 174 : 880 (1954)
- Biggs, R., Douglas, A.S., Macfarlane, R.G.
The initial stages of blood coagulation. -
J.Physiol. 122 : 538 (1953)
- Conley, C.L., Hartmann, R.C., Morse, W.I.
The clotting behavior of human "plateletfree" plasma: evidence for the existence of a "plasma thromboplastin". -
J.Clin.Invest. 28 : 340 (1949)
- Davie, E.W., Ratnoff, O.D.
Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. -
Science 145 : 1310 (1964)
- Deutsch, E. Blutgerinnungsfaktoren. -
Deuticke Verlag Wien (1955)
- Deutsch, E., Fischer, M.
Erfahrungen mit Thrombotest-OWREN, einem einfachen Reagenz zur Ueberwachung der Antikoagulantientherapie. -
Wien.med.Wschr. 44/45 : 713 (1961)
- Deutsch, E., Fischer, M.
Langzeitbehandlung mit Antikoagulantien. -
Wien.med.Wschr. 114 : 606 (1964)
- Didisheim, P., Mibashan, R.S.
Activation of Hageman factor (factor XII) by long-chain saturated fatty acids. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 9 : 346 (1963)

- Egli, H. Welche Aktivatoren, Fermente und Inhibitoren spielen bei der Gerinnung und Fibrinolyse eine Rolle? -
Therapeutische Berichte 2 : 71 (1966)
- Egli, H., Krause, W.
Zur Frage der Hageman-Faktor-Aktivität von Prothrombinpräparaten. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 21 : 111 (1969)
- Fischer, M. Probleme der Antikoagulantienbehandlung im Rahmen des Thrombosedienstes. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 12 : 528 (1964¹)
- Fischer, M. Erfahrungen mit Kapillarblutmethoden zur Ueberwachung der Antikoagulantientherapie: Thrombotest-OWREN und Prothrombinzeit nach HARTERT. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 11 : 243 (1964²)
- Fischer, M. Ein stabiles Phospholipidreagenz als Thrombozytenersatz bei Gerinnungsanalysen. -
Arzneim.-Forsch. 14 : 1321 (1964³)
- Haanen, C., Schoenmakers, J.
One-stage assay for Hageman factor (factor XII). Further studies on the role of Hageman factor in blood coagulation. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 9 : 557 (1963)
- Haanen, C., Morselt, G., Schoenmakers, J.
Contact aktivation of Hageman factor and the interaction of hageman factor and plasma thromboplastin antecedent. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 17 : 307 (1967)
- Hess, A.F. The blood and the blood vessels in hemophilia and other hemorrhagic diseases. -
Arch.Int.Med. 17 : 203 (1916)
- Horowitz, H., Wilcox, W., Fujimoto, M.
Assay of plasma thromboplastin antecedent (PTA) with artificially depleted normal plasma. -
Blood 22 : 35 (1963)
- Hosemann, H. Die Grundlagen der statistischen Methoden für Mediziner und Biologen. -
Thieme Verlag Stuttgart (1949)

- Hougie, C. A simple assay method for factor X (Stuart-Power-Factor). -
Proc.Soc.exp.Biol. 109 : 754 (1962)
- Howell, W.H. The condition of the blood in Hemophilia, Thrombosis and
Purpura. -
Arch.Int.Med. 13 : 76 (1914)
- Iatridis, S.G., Ferguson, J.H.
Active Hageman factor: a plasma lysokinase of the human
fibrinolytic system. -
J.clin.Invest. 41 : 1277 (1962)¹⁾
- Iatridis, S.G., Ferguson, J.H.
A two-stage assay method for Hageman factor activity. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 8 : 46 (1962²⁾)
- Iatridis, S.G., Ferguson, J.H.
Effect of physical exercise on blood clotting and fibrinolysis. -
J.appl.Physiol. 18 : 337 (1963)
- Iatridis, P.G., Ferguson, J.H., Iatridis, S.G.
Surface factor mechanisms in relation to blood platelets:
evidence that activated Hageman factor is present on the
surface of platelets. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 11 : 355 (1964)¹⁾
- Iatridis, S.G., Ferguson, J.H., Iatridis, P.G.
Thrombogenic properties of surface factor; evidence for an
anti-surface factor activity in canine plasma. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 12 : 35 (1964²⁾)
- Iatridis, S.G., Iatridis, P.G., Ferguson, J.H.
Roles of surface factor and a plasma inhibitory activity (anti-
SF) during experimental thrombosis in rabbits. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 12 : 489 (1964³⁾)
- Iatridis, P.G., Ferguson, J.H.
ATP-ase as an in vitro inhibitor of surface factor in the blood-
clotting mechanism. -
Proc.exp.Biol. 118 : 647 (1965)¹⁾
- Iatridis, P.G., Ferguson, J.H.
The plasmatic atmosphere of blood platelets. Evidence that
only fibrinogen, AcG, and activated Hageman factor are
present on the surface of platelets. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 13 : 114 (1965)²⁾

- Iatridis, P.G., Ferguson, J.H.
Effect of alkaline and acid phosphatases on clotting: evidence that alkaline phosphatase enhances activation of factor IX by SF, and that acid phosphatase enhances plasmatic anti-SF. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 15 : 365 (1966¹)
- Iatridis, S.G., Iatridis, P.G., Ferguson, J.H.
The role of HF (factor XII) in the pathogenesis of the thrombolytic state induced by venous occlusion. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 16 : 207 (1966²)
- Koller, F., Baer, P., Geiger, M.
Ueber die Auslösung des Gerinnungsvorganges. -
Acta haemat. 18 : 33 (1957)
- Langdell, R.D., Wagner, R.H., Brinkhous, K.M.
Effect of antihæmophilic factor on one-stage clotting test. A presumptive test for hæmophilia and a simple one-stage antihæmophilic factor assay procedure. -
J.Lab.a.Clin.Med. 41 : 637 (1953)
- Lechner, K., Deutsch, E., Reimnitzer, I.
Eine einfache Methode zur Herstellung von menschlichem Faktor-VII-Mangelplasma. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 18 : 252 (1967)
- Lenahan, J., Phillips, G.
Some variables which influence the activated partial thromboplastin time assay. -
Clin.Chem. 12 : 5 (1966)
- Linder, A.
Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. -
Birkhäuser Verlag, Basel (1960)
- Lozner, E.L., Taylor, F.H.L.
The effect of foreign surfaces on blood coagulation. -
J.clin.Invest. 21 : 241 (1942)
- Macfarlane, R.G.
An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. -
Nature 202 : 498 (1964)

- Macfarlane, R.G.
The basis of the cascade hypothesis of blood clotting. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 15 : 591 (1966)
- Margolis, J. Glass surface and blood coagulation. -
Nature 178 : 805 (1956)
- Margolis, J. Plasma pain-producing substance and blood clotting. -
Nature 180 : 1464 (1957¹)
- Margolis, J. Initiation of blood coagulation by glass and related surfaces. -
J.Physiol. 137 : 95 (1957²)
- Margolis, J. Activation of plasma by contact with glass: evidence for a
common reaction which releases plasma kinin and initiates
coagulation. -
J.Physiol. 144 : 1 (1958¹)
- Margolis, J. The kaolin clotting time: a rapid one-stop method for diagnosis
of coagulation defects. -
J.Clin.Path. 11 : 406 (1958²)
- Morawitz, P. Die Chemie der Blutgerinnung. -
Ergebn.Physiol. 4 : 307 (1905)
- Niewiarowski, St., Bankowski, E.
Studies on the adsorption and activation of the Hageman factor
(factor XII) by collagen and elastin. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 14 : 387 (1965)
- Nye, S.W., Graham, J.B., Brinkhous, K.M.
The partial thromboplastin time as a screening test for the
detection of latent bleeders. -
Am.J.M.Sc. 243 : 279 (1962)
- Ollendorf, P. Glas effect and platelet activity in Hageman plasma. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 6 : 104 (1961)
- Owren, P.A. Thrombotest-a new method for controlling anticoagulant
therapy. -
Lancet 2 : 754 (1959)
- Owren, P.A. Die Kontrolle der Anticoagulantientherapie. -
Triangel 5 : 286 (1962)

- Proctor, R.R., Rapaport, S.I.
The partial thromboplastin time with kaolin. -
Am.J.Clin.Path. 36 : 212 (1961)
- Quick, A.J., Stanley-Brown, F.W., Bancroft, F.W.
A study of the coagulation defect in hemophilia and in
jaundice. -
Amer.J.med.Sci. 190: 501 (1935)
zitiert nach latridis (1964²)
- Quick, A.J., Geppert, M.
Screening for bleeding states - the partial thromboplastin test. -
Am.J.Clin.Path. 40 : 465 (1963)
- Rapaport, S.I., Aas, K., Owren, P.A.
The effect of glass upon the activity of the various plasma
clotting factors. -
J.Clin.Invest. 34 : 9 (1955)
- Rapaport, S.I. Evidence that glass increases plasma PTA activity. -
J.Lab.Clin.Med. 52 : 624 (1958)
- Ratnoff, O.D., Rosenblum, J.M.
The role of Hageman factor in the initiation of clotting by
glass. -
J.Lab.Clin.Med. 50 : 941 (1957)
- Ratnoff, O.D., Rosenblum, J.M.
Role of Hageman factor in the initiation of clotting by glass. -
Amer.J.Med. 25 : 160 (1958)
- Rodmann, N.F., Barrow, E.M., Graham, J.B.
Diagnosis and control of the hemophiloid states with the partial
thromboplastin time (PTT) test. -
Am.J.Clin.Path. 29 : 525 (1958)
- Seegers, W.H. Basic enzymology of blood coagulation
Thrombos.Diathes.haemorrh. 14 : 213 (1965)
- Shafir, E., De Vries, A.
Studies on the clot-promoting activity of glass. -
J.Clin.Invest. 35 : 1183 (1956)
- Shanberge, J.N., Matsuoka, T.
Studies regarding the effect of foreign-surface contact on the
one-stage prothrombin time determination. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 15 : 442 (1966)

- Shanberge, J.N., Matsuoka, T.
The prothrombin time in the newborn: effect of contact activation. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 17 : 214 (1967)
- Struver, G.P., Bittner, D.L.
The partial thromboplastin time (cephalin time) in anticoagulation therapy. -
Am.J.Clin.Path. 5 : 473 (1962)
- Vigran, I.M. A new test for anticoagulant therapy. -
J.Amer.Med.Ass. 176 : 188 (1961)
- Voss, D. Standardisierung von Tests - Erfassung von Störungen im
"intrinsic system" der Blutgerinnung unter den Bedingungen der
maximalen Kontaktaktivierung mit Celit. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 12 : 295 (1964)
- Vroman, L. Biological aspects of surface activation. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. Suppl. 25 : 89 (1968)
- Waler, B.A. Contact activation in the intrinsic blood clotting system. -
Scand.J.Clin.Labor.Invest.
Suppl. 37 to vol. 11 (1959)
- Winterstein, A.
Biochemie und Pharmakologie der Antikoagulantien. -
Thrombos.Diathes.haemorrh. 2 : 428 (1958)
- Witte, S. Die biologische Bedeutung der Blutgerinnung beim Menschen. -
Med. Grundlagenforschung Bd. 3 : 552
Thieme-Verlag, Stuttgart 1960

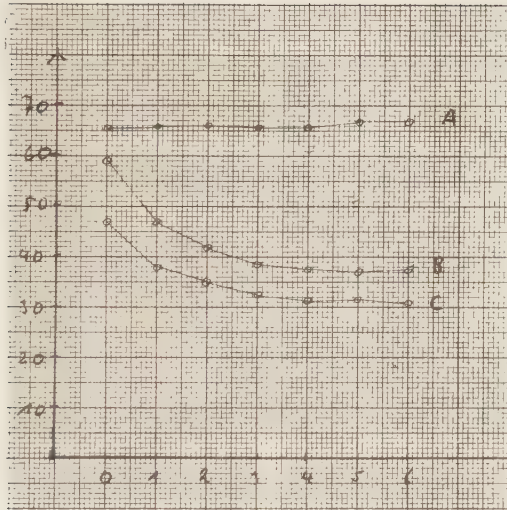


Abb. 1 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Ordinate: Gerinnungszeit in sec.

Abszisse: Inkubationszeit in min.

Kurve A: 0,2 ml Plasma + 0,1 ml Thromboplastin inkubiert von 0 bis 6 min. danach 0,1 ml Kaolin (40 mg/ml) + 0,2 ml 0,035 M CaCl_2

Kurve B: 0,2 ml Plasma + 0,1 ml Kaolin inkubiert von 0 bis 6 min. danach 0,1 ml Thromboplastin + 0,2 ml 0,035 M CaCl_2

Kurve C: 0,2 ml Plasma + 0,2 ml Thromboplastin-Kaolin-Gemisch inkubiert von 0 bis 6 min. danach 0,2 ml 0,035 M CaCl_2

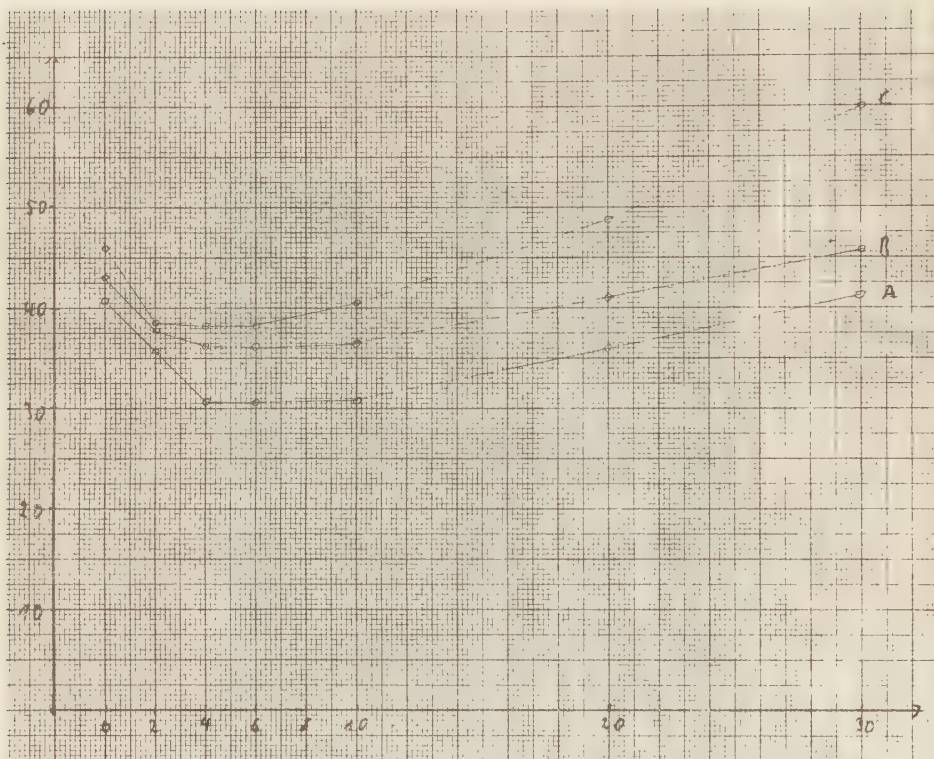


Abb. 2 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von der Inkubationszeit und versch. Kaolinkonzentrationen.
 Ordinate: Gerinnungszeit in sec.
 Abszisse: Inkubationszeit in min.
 Es wurden jeweils 0,2 ml Plasma und 0,2 ml Tachartypsan-Kaolin-Gemisch von 0 bis 30 min. inkubiert und danach mit 0,2 ml 0,035 M CaCl_2 rekalkifiziert.
 Kurve A: 20 mg/ml Kaolin
 Kurve B: 40 mg/ml Kaolin
 Kurve C: 60 mg/ml Kaolin

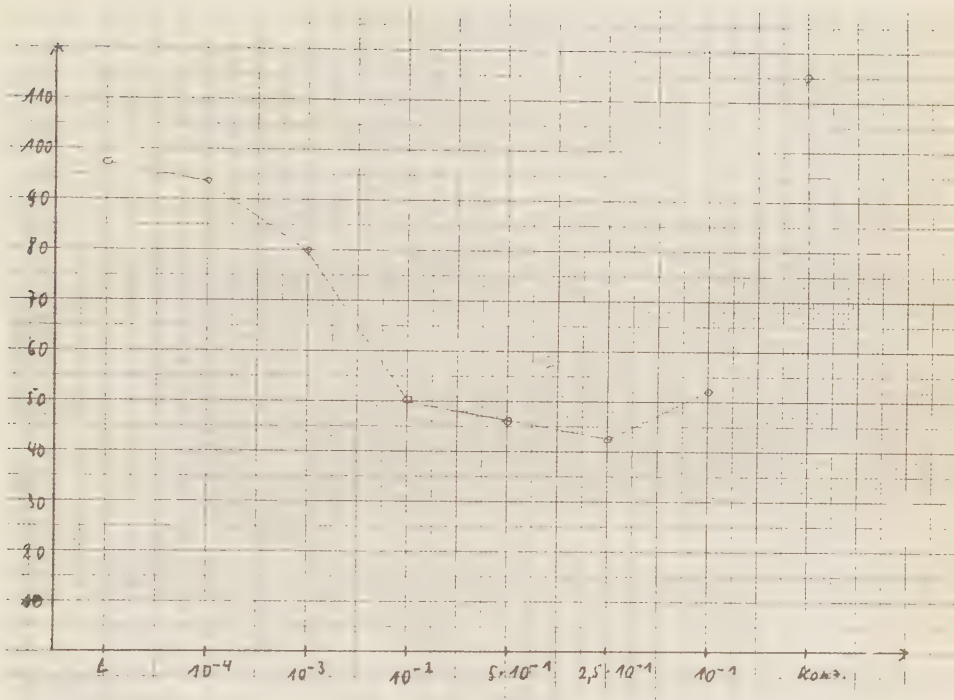


Abb. 3 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von der Thromboplastin-Konzentration

Ordinate: Gerinnungszeit in sec.

Abszisse: Konzentration des Thromboplastans

Es wurden jeweils 0,2 ml Plasma und 0,2 ml Thromboplastin-Kaolin-Gemisch (1:1) 4 bis 6 min. inkubiert und mit 0,2 ml 0,035 M CaCl_2 rekalkifiziert.

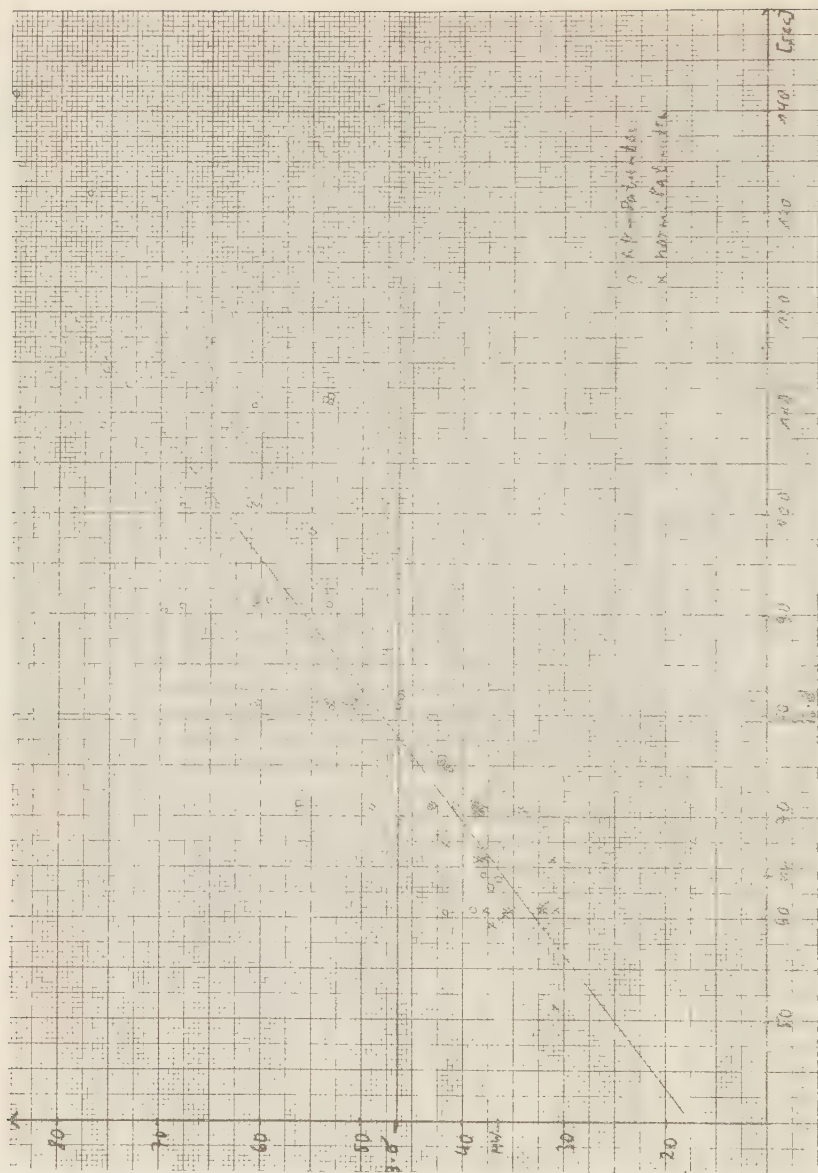


Abb. 4 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von der Vollblut-PTT
 Ordinate: Kaolin-PTT in sec.
 Abszisse: Vollblut-PTT in sec.

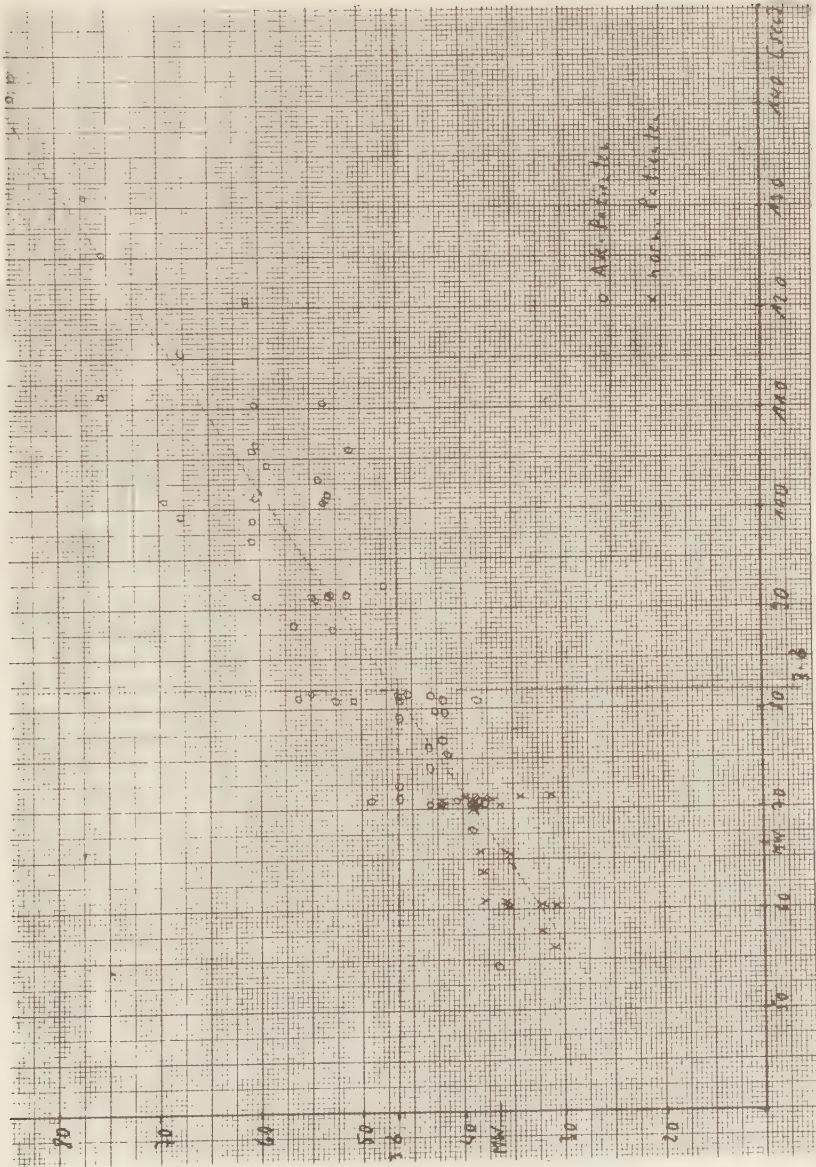


Abb. 5
 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von der Plasma-PTT
 Ordinate: Kaolin-PTT in sec.
 Abszisse: Plasma-PTT in sec.

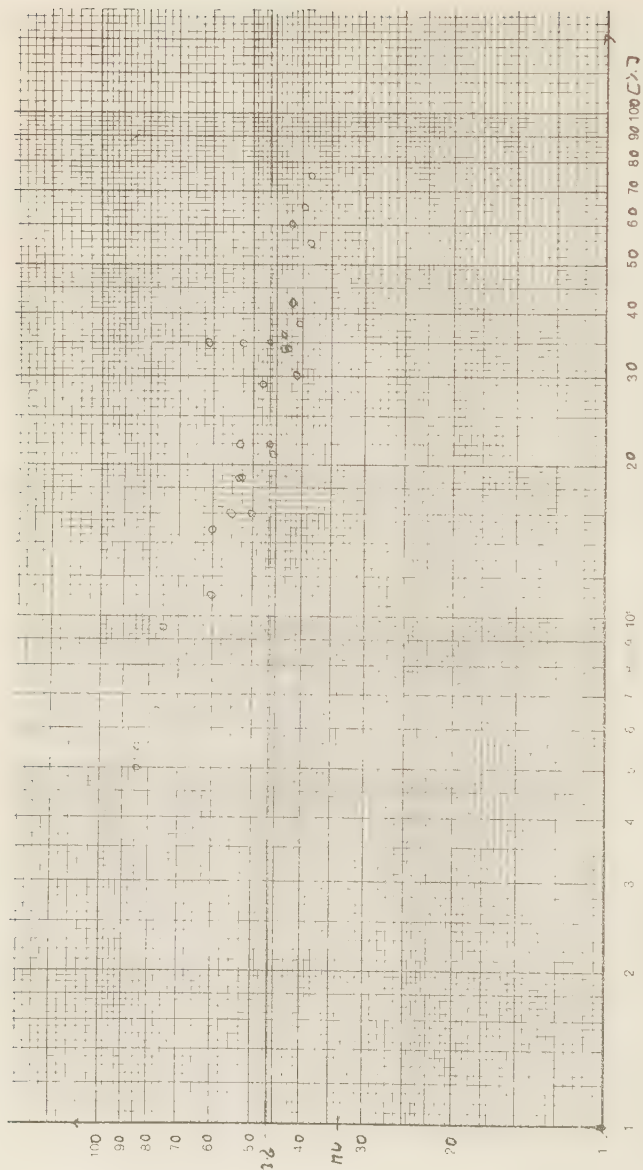


Abb. 6 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von dem Faktor IX.
 Ordinate: Kaolin-PTT in sec.
 Abszisse: Faktor IX in Prozent

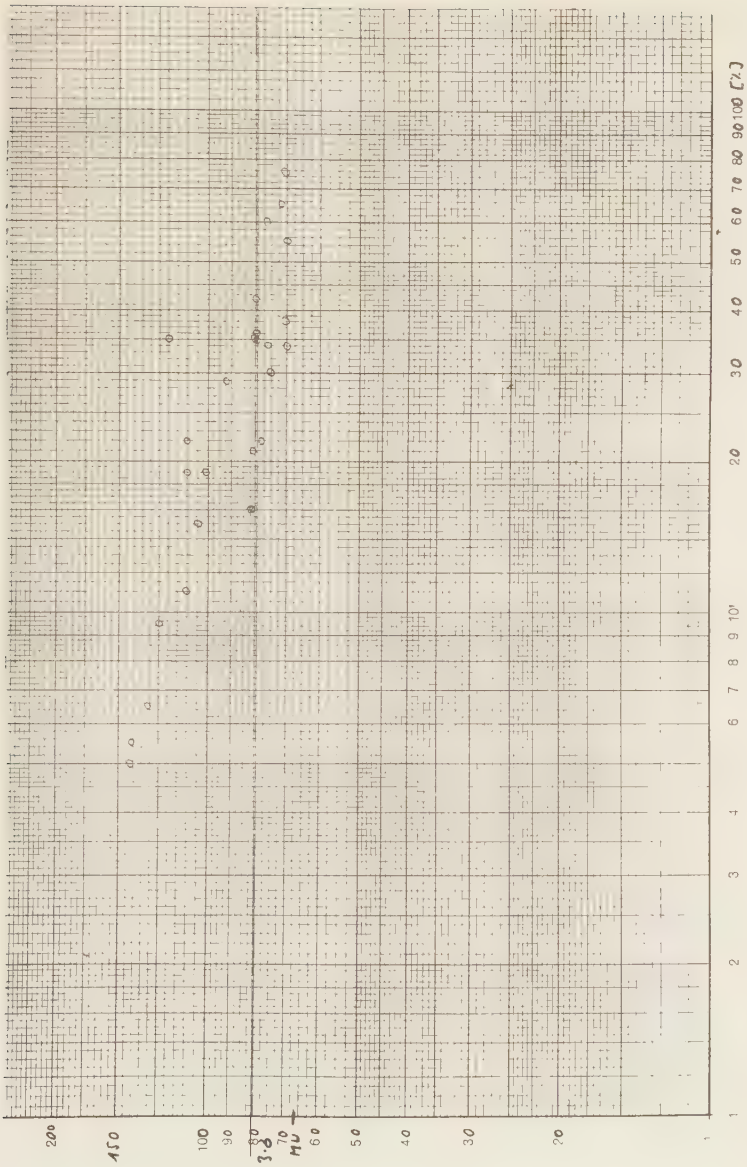


Abb. 7 Plasma-PTT in Abhängigkeit von dem Faktor IX
 Ordinate: Plasma-PTT in sec.
 Abszisse: Faktor IX in Prozent

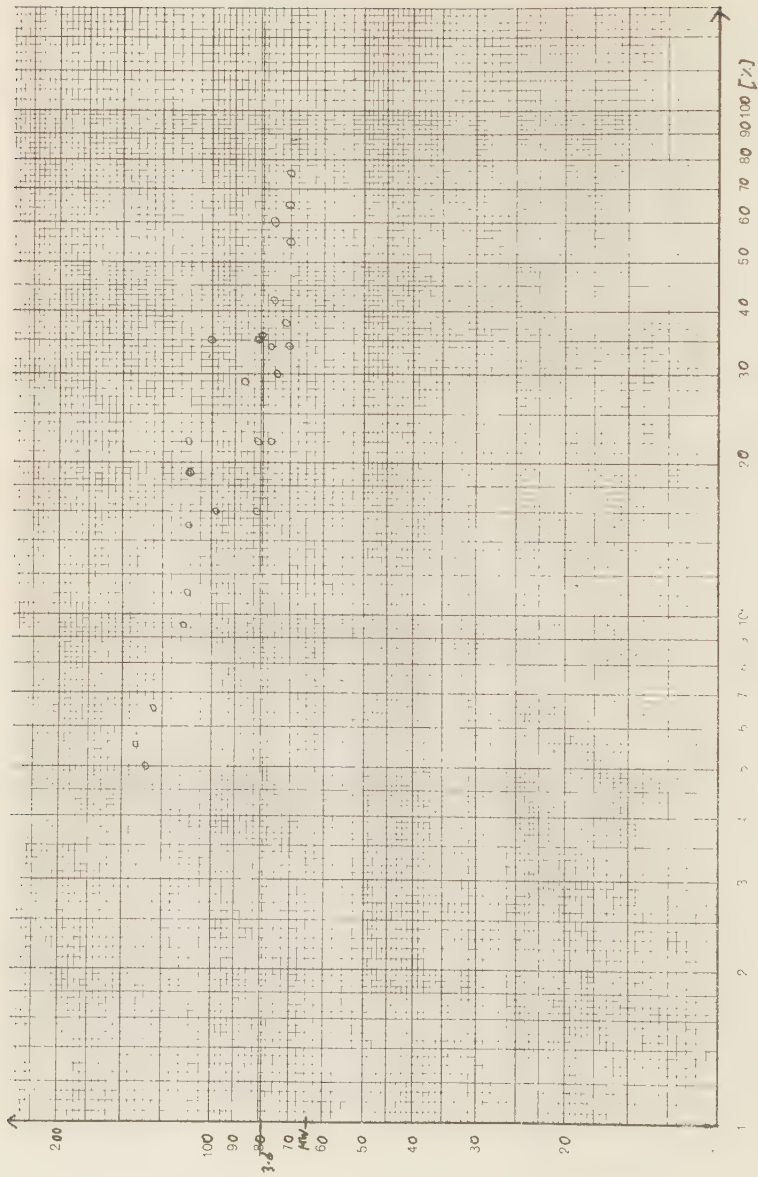


Abb. 8 Vollblut-PTT in Abhängigkeit von dem Faktor IX
Ordinate: Gerinnungszeit in sec.
Abszisse: Faktor IX in Prozent

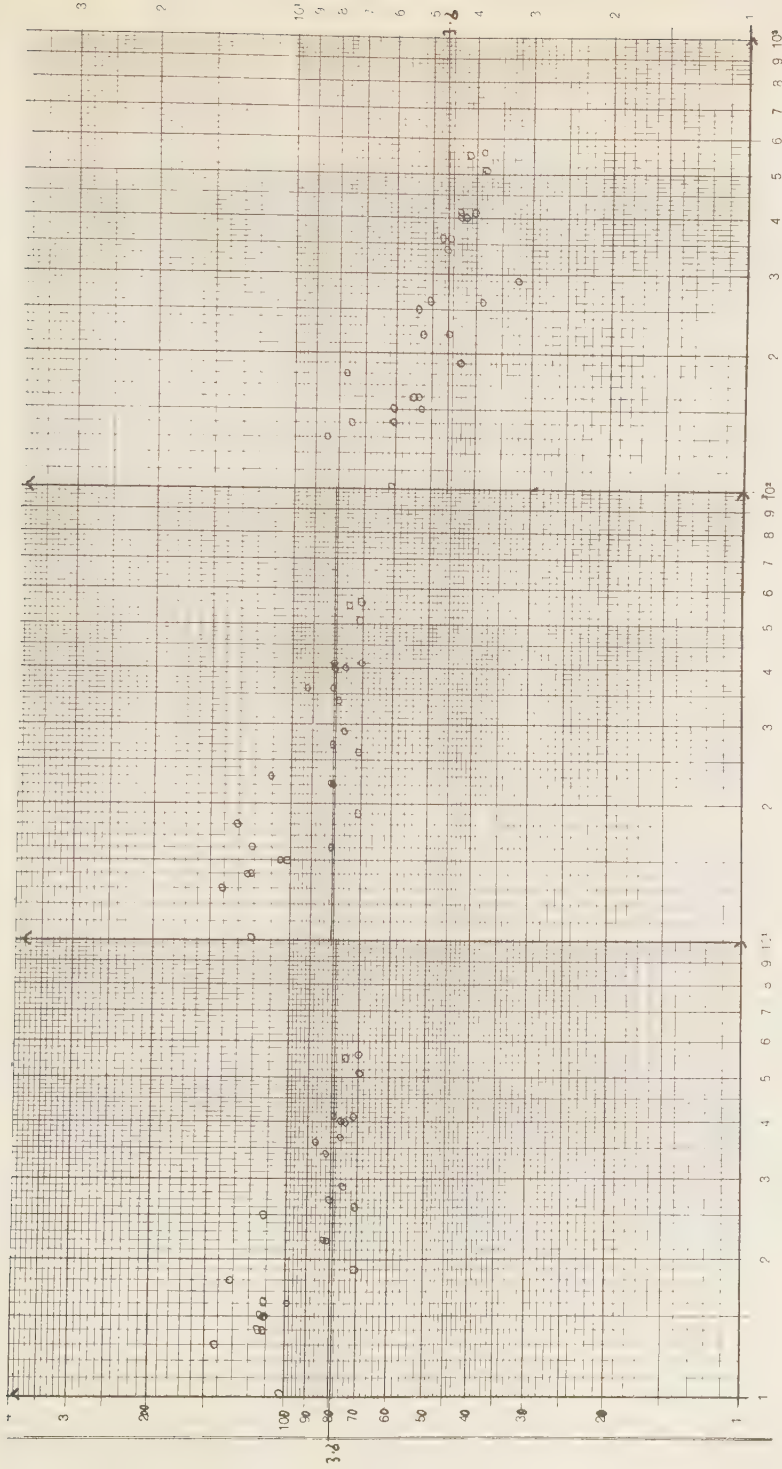


Abb. 9 Vollblut-PTT in Abhängigkeit von dem F. X
 Ordinate: Vollblut- Ptt in sec.
 Abszisse: Faktor X in Prozent

Abb. 10 Plasma-PTT in Abhängigkeit von dem Faktor X
 Ordinate: Plasma-PTt in sec.
 Abszisse: Faktor X in Prozent

Abb. 11 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von dem Faktor X
 Ordinate: Kaolin-PTT in sec.
 Abszisse: Faktor X in Prozent

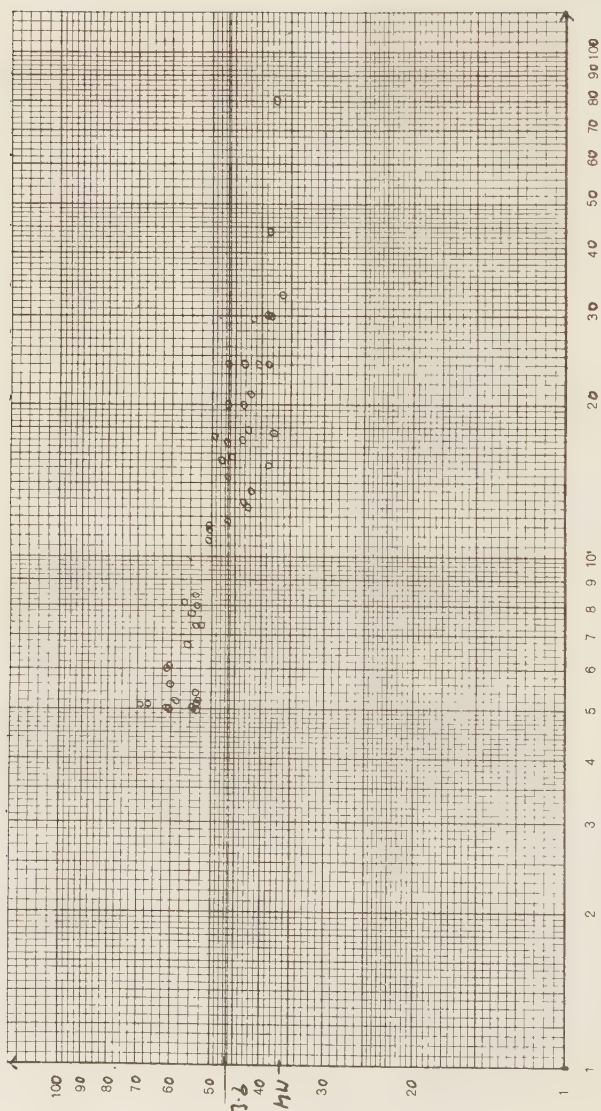


Abb. 12 Kaolin-PTT in Abhängigkeit von dem Thrombotest
 Ordinate: Kaolin-PTT in sec.
 Abszisse: Thrombotest in Prozent

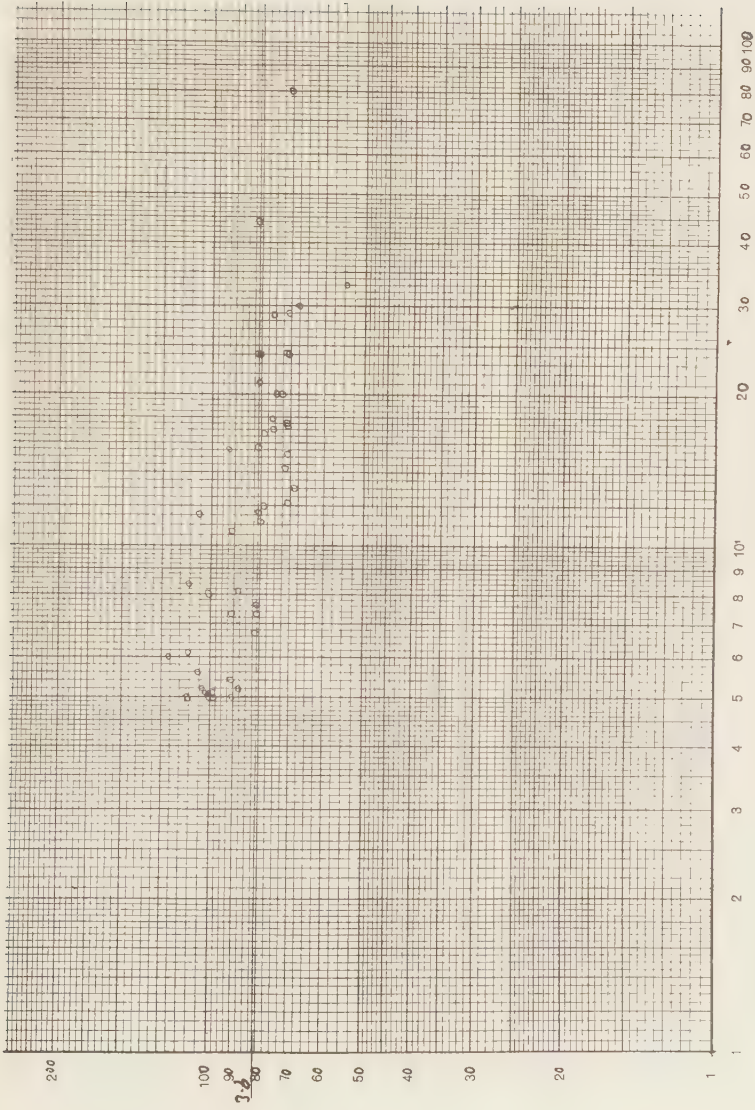


Abb. 13 Plasma-PTT in Abhängigkeit von dem Thrombotest
Ordinate: Plasma-PTT in sec.
Abszisse: Thrombotest in Prozent

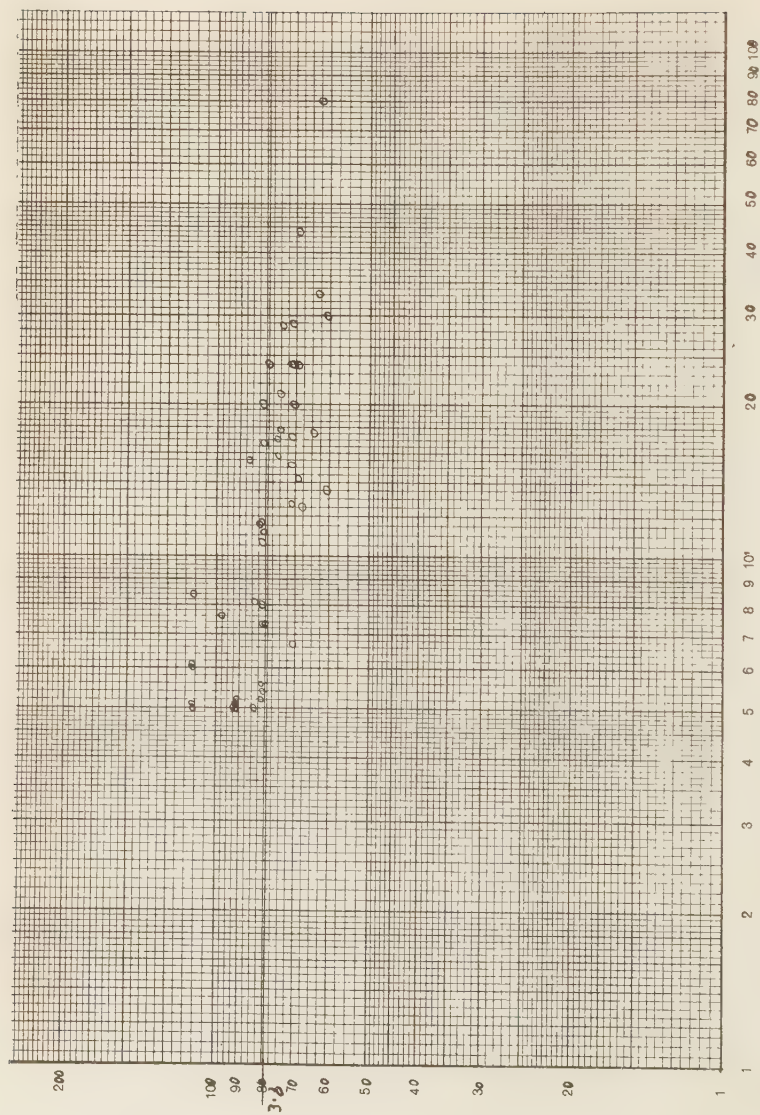


Abb. 14 Vollblut-PTT in Abhängigkeit von dem Thrombofest
 Ordinate: PTT in sec.
 Abszisse: Thrombofest in Prozent

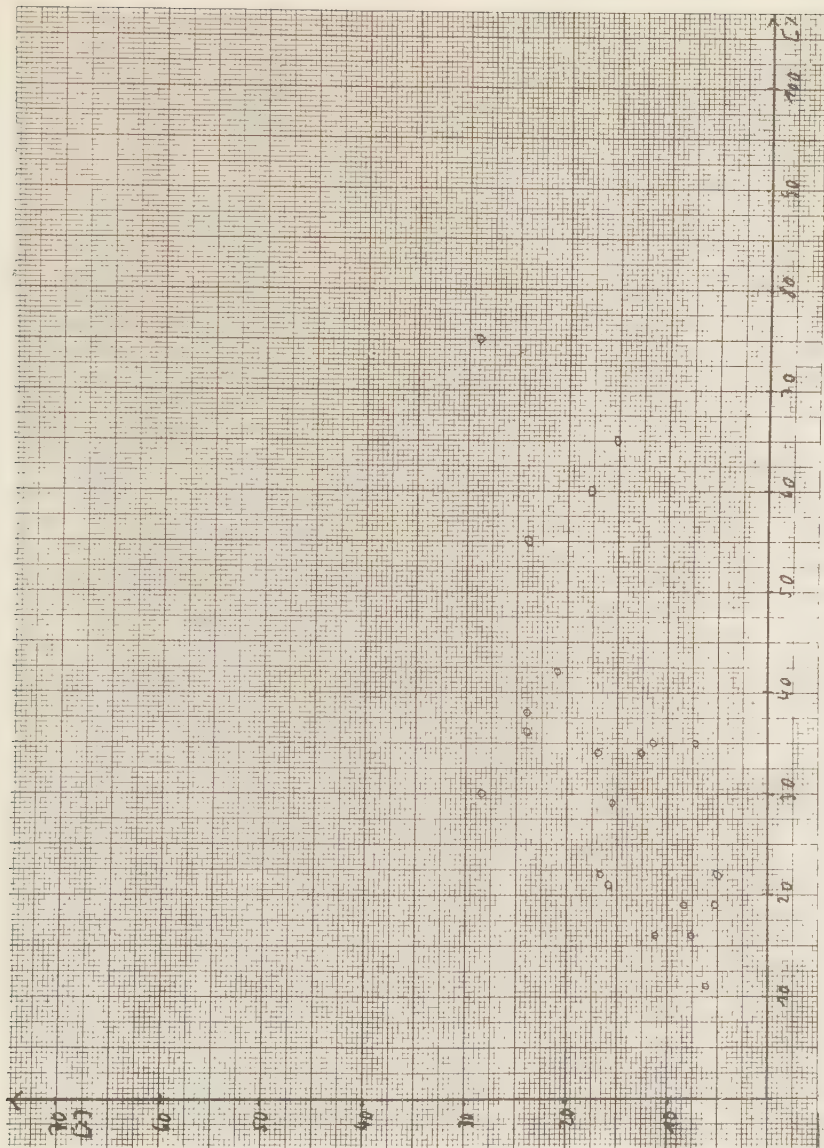


Abb. 15 Thrombotest in Abhängigkeit von dem Faktor IX

Ordinate: Thrombotest in Prozent

Abszisse: Faktor IX in Prozent

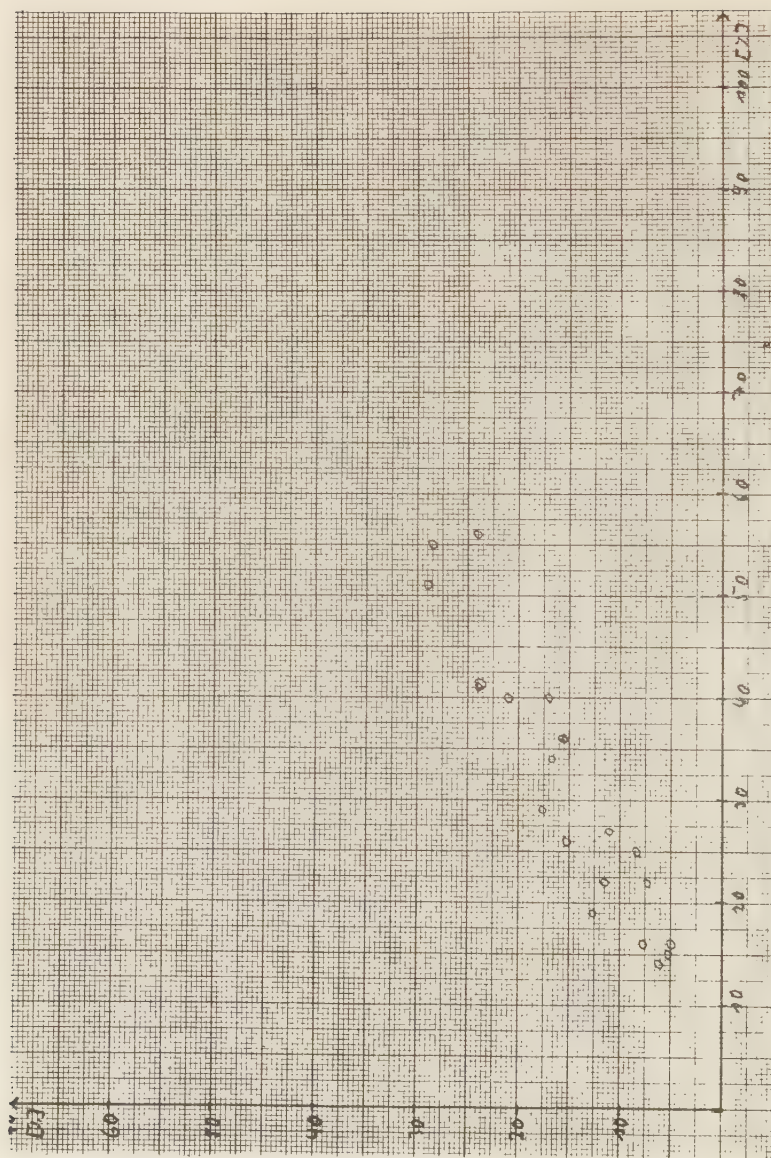


Abb. 16 Thromboplastin in Abhängigkeit von dem Faktor X
Ordinate: Thromboplastin in Prozent
Abszisse: Faktor X in Prozent

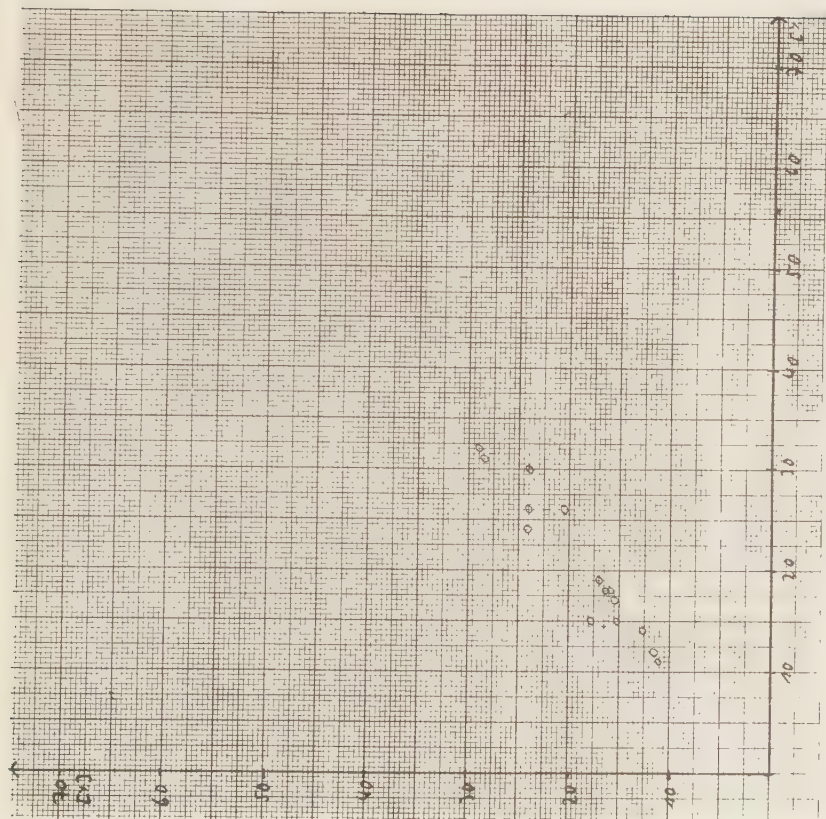


Abb. 17 Thrombotest in Abhängigkeit von der Faktor (VII/X)-Bestimmung
Ordinate: Thrombotest in Prozent
Abszisse: Faktor (VII_{1/3}/X) in Prozent

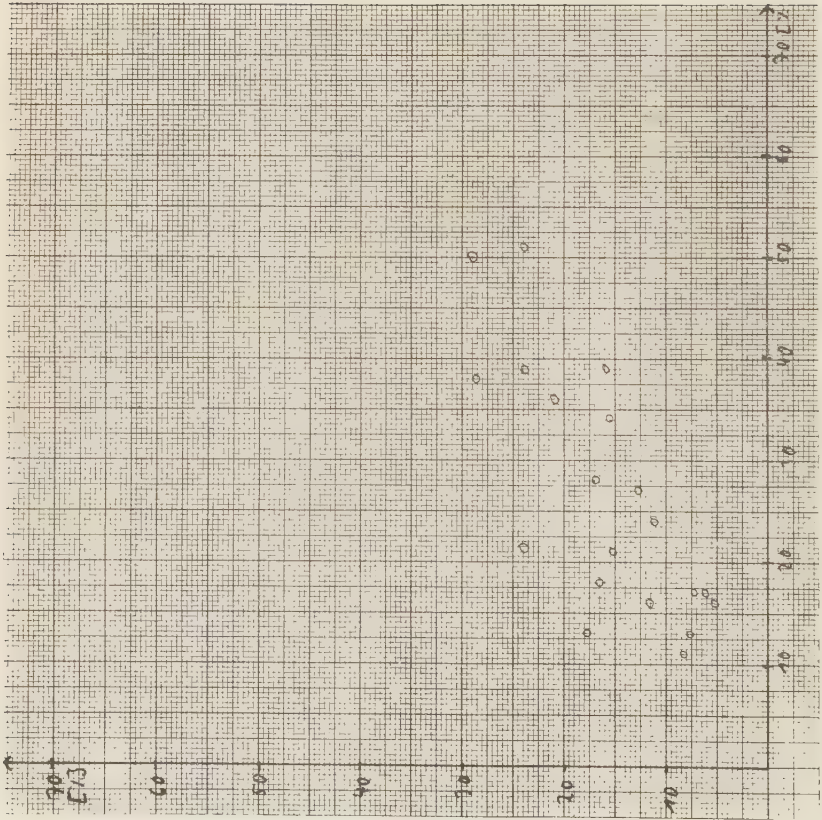
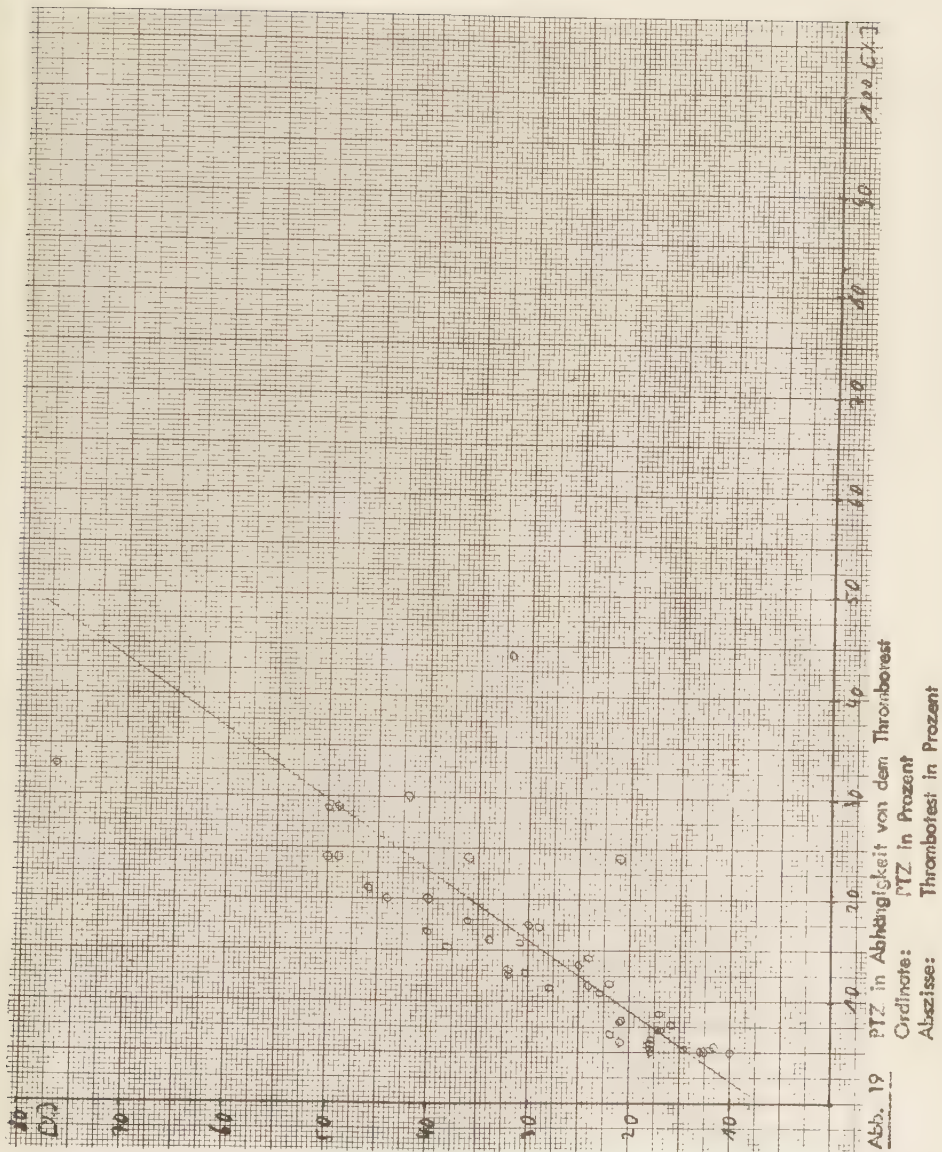


Abb. 18 Thrombotest in Abhängigkeit von dem Faktor VII

Ordinate: Thrombotest in Prozent

Abszisse: Faktor VII in Prozent



Herrn Professor Dr. E. Deutsch möchte ich für die Förderung und die Ermöglichung der Durchführung meiner Doktorarbeit an seinem Institut meinen besonderen Dank aussprechen.

Zu danken habe ich auch Herrn Dr. M. Fischer und Herrn Dr. K. Lechner für ihre wertvolle Hilfe für die vorliegende Dissertation.

Lebenslauf

Am 30. Mai 1943 wurde ich in Berlin geboren. Nach dem Besuch der Volks- und Oberschule in Berlin legte ich am 28.2.62 die Reifeprüfung ab.

Anschliessend studierte ich vier Semester an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin und weitere drei Semester an der Universität München, wo ich auch am 27.4.64 die ärztliche Vorprüfung bestand. Vom WS 65/66 bis zum WS 66/67 studierte ich in Wien und begann dort mit dem experimentellen Teil meiner Doktorarbeit bei Herrn Professor Deutsch. Nach weiteren drei klinischen Semestern in Berlin legte ich im Frühjahr 1969 das medizinische Staatsexamen ab.

Im Rahmen meiner Ausbildung als Medizinalassistent arbeitete ich im Sommer 1969 für 6 Monate am Pathologischen Institut des Krankenhauses Moabit und im Winter 1969/70 für vier Monate auf der chirurgischen Abteilung des Paulinenkrankenhauses. Nach einer weiteren vier monatigen Ausbildung auf der internen Abteilung des Martin-Luther-Krankenhauses wurde mir am 14. Oktober 1970 die Approbation erteilt.

Seit November 1970 bin ich als Assistent am Anatomischen Institut der Universität Zürich tätig.

